

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**LINFOMA COM ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS  
E FELINOS**

LAUREN SANTOS DE MELLO

PORTO ALEGRE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**LINFOMA COM ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS  
E FELINOS**

Autora: Lauren Santos de Mello

Dissertação apresentada como requisito para a  
obtenção de grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias na área de concentração em  
Patologia Animal e Patologia Clínica, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Saulo Petinatti Pavarini

PORTO ALEGRE

2018

#### CIP - Catalogação na Publicação

Mello, Lauren Santos  
Linfoma com envolvimento do sistema nervoso em  
bovinos e felinos / Lauren Santos Mello. -- 2018.  
55 f.  
Orientador: Saulo Petinatti Pavarini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. neuropatologia veterinária. 2. linfossarcoma.  
3. linfoma extradural. 4. sistemas de classificação  
de tumores linfoides. I. Pavarini, Saulo Petinatti,  
orient. II. Título.

LAUREN SANTOS DE MELLO  
LINFOMA COM ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS E  
FELINOS

Aprovado em 23 de fevereiro de 2018.

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dra. Luciana Sonne  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Eduardo Conceição de Oliveira  
Membro da Comissão

---

M.V. Dr. Eduardo Kenji Masuda  
Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço especialmente aos meus pais Sandra e Lauro, e especialmente a minha mãe por todo amor incondicional dedicado para criar os filhos, e por todo esforço para que eu pudesse alcançar meus sonhos. As minhas irmãs Daniela, Tiziani e Julien por aguentarem todos os momentos de estresses, que foram muitos, e por sempre estarem lá quando eu precisei.

Agradeço ao Saulo, por ser meu orientador desde a iniciação científica, e por ser um exemplo tanto de profissional como de pessoa.

Agradeço aos meus amigos de longa data Fernanda L, Kenne, Ana Carla, André, Luiz, Letícia, Diego e Fernanda S por serem sempre presentes na minha vida, apesar das minhas ausências.

Agradeço aos meus amigos e colegas Bárbara, Rafaela e Fernando pelos momentos de descontração no laboratório e por toda ajuda quando eu precisava.

Agradeço ao SPV, a todos os professores e a todos os colegas do presente e do passado. Muito obrigado por todo ensinamento e paciência, que foram essenciais para meu crescimento acadêmico.

## RESUMO

Os aspectos clínicos e patológicos do linfoma envolvendo o sistema nervoso (SN) de bovinos e de felinos foram avaliados através do estudo retrospectivo dos protocolos de necropsia. Durante o período de 2005-2017, de um total de 34 bovinos com linfoma, 24 apresentaram envolvimento do sistema nervoso central (SNC). Todos os bovinos afetados eram fêmeas, da raça Holandesa, com 2,5 a 12 anos de idade (idade mediana de seis anos). Clinicamente, os casos tiveram uma evolução de sete a 21 dias, com a principal alteração neurológica caracterizada por paresia de membros pélvicos, a qual foi observada em 81,8% dos casos. O envolvimento do SNC ocorreu apenas na medula espinhal, com distribuição, frequentemente, multifocal. Os segmentos lombares foram os mais envolvidos (23/24), seguidos pelos sacrais e cauda equina (20/24), cervicais (5/24) e torácicos (5/24). As massas tumorais estavam localizadas no espaço epidural, periférica à paquimeninge (extradural) e associada ao tecido adiposo. Em dois casos foi também observada mielomalacia hemorrágica progressiva. Os órgãos acometidos com maior frequência foram os linfonodos (100%), abomaso (79,2%), coração (75%) e rins (45,8%). Microscopicamente, todos os linfomas exibiam um padrão difuso, sem infiltração em meninges e cordão medular (extradural). De acordo com a classificação da REAL/WHO, todos esses neoplasmas foram incluídos como linfomas de células B maduras. O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) foi observado em 95,8% (23/24) dos casos. Os subtipos classificados dentro do grupo dos LDGCB's foram em ordem decrescente: imunoblástico (60,9% - 14/23), centrobástico (26,1% - 6/23), anaplásico (8,7% - 2/23), e rico em células T (4,3% - 1/23). Os aspectos patológicos, imuno-histoquímicos (IHQ) e etiológicos do linfoma envolvendo o sistema nervoso (SN) de felinos, foram analisados pelo período de 2004-2017. O envolvimento do SN foi observado em 16 (12,2%) dos 125 felinos com linfoma e afetou principalmente jovens com idade mediana de 24 meses. Na grande maioria dos casos o linfoma era secundário no SN e em três gatos o linfoma foi primário do SN. Na IHQ dos 16 casos, 14 (87,5%) foram positivos para FeLV, e seis (37,5%) para FIV, e apenas um foi negativo para ambos. A distribuição do linfoma no SN foi em 8/16 felinos na medula espinhal, 7/16 no encéfalo e em 1/16 em nervos e gânglios paravertebrais (neurolinfomatose). Na medula espinhal o padrão do linfoma foi exclusivamente extradural, frequentemente focal (6/8), e localizadas nos segmentos lombares (3/6), sacrais (1/6), torácicos (1/6) e cervicais (1/6). No encéfalo, os padrões neuroanatômicos observados foram: linfomatose leptomeningeal (4/7), coroidite linfomatosa (2/7), linfoma intradural (1/7). No felino classificado com neurolinfomatose primária, foi observado acentuado espessamento dos nervos e gânglios paravertebrais da região sacral. Os linfomas de células B (75%) foram os mais frequentes, e o principal tipo foi o linfoma difuso de grandes células B (11/16). Os linfomas de células T (25%), foram classificados como linfomas de células T periférico inespecífico (3/16) e linfoma linfoblástico T (1/16).

**Palavras-chave:** Neuropatologia, linfossarcoma, linfoma extradural, sistemas de classificação de tumores linfóides.

## ***ABSTRACT***

Clinical and pathological features of bovine and feline lymphoma involving the nervous system (NS) were evaluated through a retrospective study of necropsy database. During 2005 to 2017, from a total of 34 cattle diagnosed with lymphoma, 24 present central nervous system (CNS) involvement, characterized by spinal cord lesions. All cattle were Holstein cows, 2,5-12 years-old (six years median age). Clinically, these animals presented a clinical course of seven to 21 days with the main neurological sign characterized by pelvic limb paresis (81,8%). CNS lymphoma affected only the spinal cord, and often multifocally. Lumbar segments were mostly affected (23/24), followed by sacral and cauda equina (20/24), cervical (5/25) and thoracic (5/24) segments. Neoplasms masses were located in the epidural space, peripherally to the pachymeninge (extradural) and between the adipose tissue. In addition to that, two cases had a progressive hemorrhagic myelomalacia. The main organs affected were lymph nodes (100%), abomasum (79,2%), heart (75%) and kidneys (45,8%). Microscopically, all lymphomas had a diffuse pattern, with no meningeal or medullar infiltration. According to the REAL/WHO classification, all these neoplasms were mature B-cell lymphomas. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) was observed in 95,8% (23/24) of the cases. The subtypes classified within DLBCL group were in descending order: immunoblastic (60,9% - 14/23), centroblastic (26,1% - 6/23), anaplastic (8,7% - 2/23) and T-cell rich (4,3% - 1/23). The pathological, immunohistochemical (IHC) and etiological features of lymphoma involving the nervous system (NS) in cats were analyzed through a retrospective study (2004-2017) in Rio Grande do Sul state, Brazil. The NS involvement was observed in 16 (12,2%) of 125 felines with lymphoma. Young cats were mainly affected, with a median of 24 months-old. Most of the cases were secondary central NS lymphoma, while in three cats the NS involvement was primary. IHC revealed that 14 (87,5%) FeLV- positive, six FIV-positive, one FeLV/FIV- negative. Distribution of feline lymphoma in the NS were 8/16 in spinal cord, 7/16 in brain and 1/16 in paravertebral nerves and ganglia (neurolymphomatosis). Lymphoma pattern in the spinal cord was exclusively extradural, often focal (6/8), and located in segments lumbar (3/6), sacral (1/6), thoracic (1/6) and cervical (1/6). Brain neuroanatomical patterns were: leptomeningeal lymphomatosis (4/7), lymphomatous choroiditis (2/7), intradural lymphoma (1/7). The feline with primary neurolymphomatosis presented a marked thickening of paravertebral nerves and ganglia from sacral region. The B-cell lymphomas (75%) were often diagnosed, and the diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) (11/16) was the main subtype. The T-cell lymphomas (25%) were less commonly observed, which were classified in peripheral T-cell lymphoma (PTCL) (3/16) and T-cell lymphoblastic lymphoma (T-LBL) (1/16).

**Key-words:** Neuropathology, lymphosarcoma, extradural lymphoma, lymphoid tumor classification systems.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2. ARTIGO 1</b> .....	11
<b>3. ARTIGO 2</b> .....	30
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	52
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53



## 1 INTRODUÇÃO

Os linfomas (linfomas malignos ou linfossarcomas) representam um grupo heterogêneo de neoplasias do sistema hematopoiético derivadas de linfócitos (VALLI *et al.*, 2016). Esses neoplasmas frequentemente se originam de órgãos linfoides, como linfonodo, baço ou do tecido linfoide associado à mucosa (MALT) e, menos frequentemente, em órgãos não linfoides (FIGHERA; GRAÇA, 2010). Na medicina humana, eles são divididos em linfomas Hodgkin (LH) e não-Hodgkin (LNH) (SWERDLOW *et al.*, 2016). Na medicina veterinária, entretanto, os linfomas se assemelham aos não-Hodgkin apesar de casos de linfoma tipo-Hodgkin já terem sido relatados (WALTON; HENDRICK, 2001, VALLI *et al.*, 2016).

Os linfomas apresentam diversas morfologias aliadas a diferentes apresentações clínicas, prognóstico e tratamento. Dessa forma, tanto na medicina humana quanto na veterinária foram feitas inúmeras tentativas de estabelecer uma classificação racional para esses tumores (PARODI, 2001, JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002). A classificação tumoral ideal deveria refletir diferentes categorias morfológicas, com previsão biológica de cada subtipo, associadas a suas implicações clínicas e terapias (PARODI, 2001).

Criada em 1966, a classificação de Rappaport foi uma das primeiras classificações adotadas e bastante utilizada em medicina veterinária até meados dos anos 90 (WELLER *et al.*, 1980, VALLI *et al.*, 1981, GREENLEE *et al.*, 1990). Basicamente os critérios classificatórios não se baseavam somente na morfologia celular, mas também no padrão de crescimento neoplásico, distinguido em folicular ou difuso (RAPPAPORT, 1966). Entretanto, apesar da arquitetura ser um indicativo, essa classificação não oferecia valor prognóstico, em função da maior parte dos linfomas em animais serem difusos (TESKE *et al.*, 1994, PARODI, 2001). Originada em 1974, na Europa, a classificação de Kiel introduziu um novo conceito, mesmo sem o advento da imuno-histoquímica, e baseado nos possíveis fenótipos das células T e B nos diferentes graus de diferenciação celular (PARRODI, 2001). Para fins de prognóstico, essa classificação dividia os linfomas em alto e baixo grau de malignidade (TESKE; VAN HEERDE, 1996). A classificação de Lukes-Collins surgiu na América do Norte quase simultaneamente a anterior. Apesar da semelhança com a classificação de Kiel, na de Lukes-Collins não existe subdivisão por grau de malignidade (LUKES, 1978, TESKE; VAN HEERDE, 1996). Ambos os dois últimos sistemas, baseados em conceitos imunológicos, diferiram significativamente em apenas duas de 13 entidades (VALLI *et al.*, 2016). Com o objetivo de unificar as inúmeras classificações o Instituto Nacional do Câncer lançou mão de um estudo multi-

institucional que originou a *Working Formulation* (WF), publicada em 1982. Essa classificação basicamente representa um sistema de tradução para as classificações existentes de linfoma não-Hodgkin humano, e voltada para aspectos clínicos e não morfológicos (PARODI, 2001, JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002). Em 1994, com o objetivo de unificar aspectos morfológicos, imunofenotípicos, genéticos e clínicos foi criada *Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms* (REAL), posteriormente incorporada pela Organização Mundial da Saúde (WHO) (VALLI *et al.*, 2016). Essa sistemática também enfatiza a distinção entre grau histológico e agressividade clínica, de maneira que a classificação histológica deve ser aplicada dentro de tipos individuais de linfomas e não em todo o espectro de neoplasias linfoides, como era feito anteriormente (HARRIS *et al.*, 1994, HARRIS *et al.*, 1999, PARODI, 2001).

Devido as numerosas semelhanças que existem entre os linfomas em animais e os LNH's em humanos, a maioria das classificações propostas para animais foram adaptadas dos humanos (JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002). Dentre todas as classificações adaptadas, a mais importante e frequentemente utilizada para animais atualmente é a proposta pela REAL incorporada pela WHO (Quadro 1) (VALLI *et al.*, 2016).

Em bovinos, os linfomas são divididos em dois grandes grupos: enzoóticos (LBE) e esporádicos (LE) (THURMOND, 2006). A forma enzoótica é a mais frequente e ocorre associada ao vírus da leucemia bovina (BLV) em animais adultos (AIDA *et al.*, 2013). Em estudo no qual foram classificados 1198 linfomas bovinos baseados na WF, o principal tipo morfológico observado foi o difuso de grandes células clivadas e não clivadas, o qual representou mais de 65% dos casos (VERNAU *et al.*, 1992). O imunofenótipo B é o mais encontrado nesses neoplasmas, relacionado principalmente a ação do BLV (VERNAU *et al.*, 1997, YIN *et al.*, 2003). Na classificação REAL o tipo mais observado é o difuso de grandes células B (VALLI *et al.*, 2002, PANZIERA *et al.*, 2016).

O linfoma é o neoplasma mais comum de felinos e representa cerca de 90% das neoplasias hematopoiéticas dessa espécie animal (HARDY, 1981, SCHMIDT *et al.*, 2010). O principal agente etiológico associado ao desenvolvimento de neoplasmas hematopoiéticos, é o vírus da leucemia felina (FeLV), relatado em até 80% de felinos com linfomas e leucemias (HARTMANN, 2012). Os linfomas associados ao FeLV são frequentemente associados ao imunofenótipo T, do tipo linfoblástico, e principalmente nas formas mediastinais (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Em um estudo de classificação de 602 linfomas felinos pela WF, cerca de metade dos neoplasmas eram de

alto grau e 30% de grau intermediário. Ainda no mesmo trabalho, dentre as 18 categorias o tipo imunoblástico foi o mais frequente, representando 29,6 % dos linfomas em gatos (VALLI *et al.*, 2000). De acordo com a classificação pela WHO o tipo mais frequente em felinos é o linfoma intestinal de células T, seguido pelo linfoma de células T periférico (VEZZALI *et al.*, 2010).

O linfoma é principal neoplasma do SNC de felinos (LANE *et al.*, 1994, BRADSHAW; PEARSON; GRUFFYDD-JONES, 2004, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008) e a principal causa neoplásica compressiva da medula espinhal de bovinos (REBHUN *et al.*, 1984). O envolvimento do sistema nervoso central (SNC) geralmente é observado em ambas as espécies em decorrência da forma multicêntrica (MARSHAK *et al.* 1962, LANE *et al.*, 1994, VALLI, 2007, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008, BURTON *et al.*, 2010). Tanto em bovinos quanto em felinos o linfoma é descrito mais frequentemente na medula espinhal do que intracranial (SWEENEY *et al.*, 1986; SHERMAN, 1987, JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002, TROXEL *et al.*, 2003; TOMEK *et al.*, 2006, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008). Desta forma, o primeiro trabalho tem como objetivo abordar os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos dos linfomas bovinos com acometimento do SNC (medula espinhal), além de realizar a avaliação fenotípica e imunofenotípica desses neoplasmas através do sistema de classificação REAL/WHO. O objetivo do segundo trabalho é abordar os aspectos epidemiológicos e anatomopatológicos dos linfomas em sistema nervoso (SN) de felinos, além de classificar essa neoplasia de acordo com a WHO visando associa-la aos padrões de distribuição do linfoma no SN.

**Quadro 1.** Classificação de neoplasmas linfoides adotada pela WHO, aplicada para uso animal (JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002).

Neoplasmas de células B	Neoplasmas de células T e NK <sup>2</sup>
<p><b>Neoplasma precursor de células B</b> Leucemia linfoblástica-B/ Linfoma linfoblástico-B</p>	<p><b>Neoplasma precursor de células T</b> Leucemia linfoblástica -T/ Linfoma linfoblástico-T</p>
<p><b>Neoplasmas de células B maduras (periféricas)</b></p> <p>Leucemia linfocítica crônica/ Linfoma linfocítico de células pequena B</p> <p>Linfoma difuso de grandes células B</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Centroblástico</li> <li>• Imunoblástico</li> <li>• Anaplásico</li> <li>• Rico em células T</li> <li>• Granulomatose linfomatoide</li> </ul> <p>Linfoma folicular de células B</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Grau I</li> <li>• Grau II</li> <li>• Grau III</li> </ul> <p>Linfoma de células B de zona marginal</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma de células B de zona marginal nodal</li> <li>• Linfoma de células B esplênico</li> <li>• MALT<sup>1</sup></li> </ul> <p>Linfoma de células do manto Linfoma <i>Burkitt-like</i> Plasmocitoma extramedular Mieloma Múltiplo</p>	<p><b>Neoplasmas de células T maduras (periféricas)</b></p> <p>Linfoma de células T nodal</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma de zona T</li> <li>• Linfoma de células T periférico inespecífico</li> <li>• Linfoma de grandes células T anaplásico</li> <li>• Linfoma de células T angioimunoblástico</li> </ul> <p>Linfoma de células T associado a enteropatia (LTAE)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo células grandes: tipo I LTAE</li> <li>• Tipo células pequenas: tipo II LTAE</li> </ul> <p>Linfoma extranodal de células T</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma hepatoesplênico de células T</li> <li>• Linfoma hepatocitotrópico de células T</li> <li>• Linfoma periférico de células T, inespecífico</li> </ul> <p>Linfoma cutâneo de células T</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma cutâneo epiteliotrópico de células T Micose fungoide reticulose pagetoide Síndrome de Sézary</li> <li>• Linfoma cutâneo não-epiteliotrópico de células T Linfoma de células T periférico inespecífico Linfoma de células T, do tipo paniculite Linfoma de grandes células T anaplásico</li> <li>• Leucemia linfocítica granular de células T Leucemia linfocítica granular de células T aguda Leucemia linfocítica granular de células T crônica</li> </ul>

<sup>1</sup> tecido linfóide associado a mucosa

<sup>2</sup> natural killer

## **2 ARTIGO 1**

Nesse item é apresentado o artigo intitulado **“ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS EM BOVINOS COM LINFOMA ENVOLVENDO A MEDULA ESPINHAL”**.

## ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS EM BOVINOS COM LINFOMA ENVOLVENDO A MEDULA ESPINHAL

### CLINICAL AND PATHOLOGICAL ASPECTS IN BOVINE LYMPHOMA INVOLVING THE SPINAL CORD

#### RESUMO

Os aspectos clínicos e patológicos do linfoma envolvendo o sistema nervoso central (SNC) de bovinos foram avaliados através do estudo retrospectivo dos protocolos de necropsia durante o período de 2005-2017. De um total de 34 bovinos com linfoma, 24 apresentaram envolvimento do SNC. Todos os bovinos afetados eram fêmeas, da raça Holandesa, com 2,5 a 12 anos de idade (idade mediana de seis anos). Clinicamente, os casos tiveram uma evolução de sete a 21 dias, com a principal alteração neurológica caracterizada por paresia de membros pélvicos, a qual foi observada em 81,8% dos casos. O envolvimento do SNC ocorreu apenas na medula espinhal, com distribuição frequentemente multifocal. Os segmentos lombares foram os mais envolvidos (23/24), seguidos pelos sacrais e cauda equina (20/24), cervicais (5/24) e torácicos (5/24). As massas tumorais estavam localizadas no espaço epidural, periférica à paquimeninge (extradural) e associada ao tecido adiposo. Em dois, casos também foi observada mielomalacia hemorrágica progressiva. Os órgãos acometidos com maior frequência foram os linfonodos (100%), abomaso (79,2%), coração (75%) e rins (45,8%). Microscopicamente, todos os linfomas exibiam um padrão difuso, sem infiltração em meninges e cordão medular (extradural). De acordo com a classificação da REAL/WHO, todos esses neoplasmas foram incluídos como linfomas de células B maduras. O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) foi observado em 95,8% (23/24) dos casos. Os subtipos classificados dentro do grupo dos LDGCB's foram em ordem decrescente: imunoblástico (60,9% - 14/23), centroblastico (26,1% - 6/23), anaplásico (8,7% - 2/23), e rico em células T (4,3% - 1/23).

**Palavras-chave:** Neuropatologia veterinária, paresia, linfossarcoma, bovinos de leite.

## ABSTRACT

Clinical and pathological features of bovine lymphoma involving the central nervous system (CNS) were evaluated through a retrospective study of necropsy database from 2005 to 2017. Lymphoma affected 34 cattle, of which 24 presented CNS involvement. All cattle were Holstein cows, 2,5-12 years-old (six years median age). Clinically, these animals presented a clinical course of seven to 21 days with the main neurological sign characterized by pelvic limb paresis (81,8%). CNS lymphoma affected only the spinal cord, and often multifocally. Lumbar segments were mostly affected (23/24), followed by sacral and cauda equina (20/24), cervical (5/24) and thoracic (5/24) segments. Neoplastic masses were located in the epidural space, peripherally to the pachymeninge (extradural) and between the adipose tissue. In addition to that, two cases had a progressive hemorrhagic myelomalacia. The main organs affected were lymph nodes (100%), abomasum (79,2%), heart (75%) and kidneys (45,8%). Microscopically, all lymphomas had a diffuse pattern, with no meningeal or medullar infiltration. According to the REAL/WHO classification, all these neoplasms were mature B-cell lymphomas. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) was observed in 95,8% (23/24) of the cases. The subtypes classified within DLBCL group were in descending order: immunoblastic (60,9% - 14/23), centroblastic (26,1% - 6/23), anaplastic (8,7% - 2/23) and T-cell rich (4,3% - 1/23).

**Keywords:** Veterinary neuropathology, paresis, lymphosarcoma, dairy cattle.

## INTRODUÇÃO

O termo linfoma engloba um grupo heterogêneo de neoplasias originadas de tecidos linfoides, as quais apresentam variabilidade nas apresentações clínicas, morfológicas e prognósticas (PARODI, 2001, BOES; DURHAM, 2017). Diferentemente de outras espécies de mamíferos domésticos, bovinos possuem uma classificação anatômica própria para os linfomas. Os linfomas bovinos são divididos em dois grandes grupos: enzoóticos (LBE) e esporádicos (LE) (THURMOND, 2006).

A forma enzoótica é a mais comum e trata-se de uma enfermidade infectocontagiosa de bovinos adultos associada ao vírus da leucemia bovina (BLV) (AIDA *et al.*, 2013). Essa forma é observada, predominantemente, em bovinos de aptidão leiteira, com pico de ocorrência entre cinco e oito anos (MARSHAK *et al.*, 1962, VERNAU *et al.*, 1992). A distribuição do LBE é referida como multicêntrica, uma vez que qualquer órgão pode ser envolvido e, conseqüentemente, os sinais clínicos variam de acordo com os sítios de localização do tumor (BURTON *et al.*, 2010, VALLI *et al.*, 2016). Morfológicamente, os LBE's são caracterizados por proliferação monoclonal de linfócitos B (VERNAU *et al.*, 1997, YIN *et al.*, 2003).

A imunofenotipagem dos linfócitos neoplásicos é uma demanda crescente para o entendimento da patogênese da doença (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Pelo fato dos linfomas em animais apresentarem numerosas similaridades com os linfomas humanos não Hodgkin (NHL), as classificações utilizadas em medicina veterinária seguem as bases da hematologia humana (SUEIRO; ALESSI; VASSALLO, 2004, PONCE *et al.*, 2010, VEZZALI *et al.*, 2010, VALLI *et al.*, 2010). Dentre as classificações adaptadas, a mais importante e frequentemente utilizada para animais atualmente é a *Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms* (REAL), que posteriormente foi incorporada a Organização Mundial da Saúde (WHO) (VALLI *et al.*, 2016).

Embora o envolvimento da medula espinhal represente uma apresentação comum do linfoma enzoótico em bovinos, na literatura há poucos dados relacionados com a caracterização epidemiológica e clínico-patológica desse neoplasma na medula espinhal e que apresente também um enfoque simultâneo na identificação histológica e imunohistoquímica (IHQ) desse envolvimento (VALLI *et al.*, 2016, VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo abordar os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos dos linfomas com



acometimento do SNC (medula espinhal), além de realizar a avaliação fenotípica e imunofenotípica dessas neoplasmas através do sistema de classificação REAL/WHO.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os arquivos dos exames de necropsias de bovinos com diagnóstico de linfoma durante o período de janeiro de 2005 a janeiro de 2017 e foram selecionados os casos com envolvimento do SNC. Todos os bovinos eram oriundos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, principalmente da Região Metropolitana de Porto Alegre. As informações contidas nos protocolos foram agrupadas, registradas e classificadas quanto à idade, à raça, ao sexo, aos sinais clínicos, aos órgãos afetados e a distribuição neoplásica no canal epidural com envolvimento da medula espinhal.

A análise microscópica dos linfomas foi realizada em lâminas histológicas coradas com hematoxilina e eosina (HE). A avaliação baseou-se no padrão de distribuição dos linfócitos (difuso e folicular), dimensão celular e taxa mitótica. O tipo celular foi caracterizado baseado na avaliação da dimensão celular, do formato nuclear, e de características referente a cromatina e nucléolo. A taxa mitótica foi estabelecida através da média de mitoses em 10 campos de maior aumento (CMA, 400x). A dimensão celular foi estipulada em comparação do núcleo celular com o diâmetro de eritrócitos (5,5µm). Dessa forma as células foram classificadas como pequenas quando o diâmetro nuclear era equivalente a no máximo 1,5 eritrócitos, intermediárias quando o diâmetro nuclear estava entre 1,5 e 2 eritrócitos e grandes quando o diâmetro do núcleo correspondia a 2 ou mais eritrócitos (NCI, 1982, VERNAU *et al.*, 1992, VALLI *et al.*, 2016).

A análise imunofenotípica dos linfócitos neoplásicos foi realizada através do sistema de classificação REAL/WHO com aplicação para uso animal, que se baseia nas características morfológicas e imunofenotípicas (VALLI *et al.*, 2016). Para essa classificação, foi realizada a técnica de IHQ com os anticorpos primários CD79α (M7051, clone HM57; Dako), para identificar linfócitos B e CD3 (A452; Dako), para linfócitos T. A IHQ foi realizada pelo método de polímero (MACH4), e processada em secções histológicas montadas em lâminas positivadas, previamente desparafinadas e hidratadas. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado em solução de peróxido de hidrogênio 10%. A recuperação antigênica para a IHQ de CD79α foi realizada com tampão de citrato pH 6,0 em panela de pressão a vapor (96°C, 20 minutos). O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com Protein Block (Dako) durante 7 minutos. Para a IHQ de

CD3 a recuperação antigênica utilizada foi Protease XIV (Sigma), e o bloqueio das reações inespecíficas foi realizado no leite por 15 minutos. Os anticorpos primários anti-CD79 $\alpha$  (1:100) e anti-CD3 (1:500) foram incubados (25°C) *overnight*. Os produtos da reação foram visualizados utilizando o cromógeno DAB (diaminobenzeno) para o CD3, e AEC (aminoetilcarbazol) para CD79 $\alpha$ . A contra-coloração foi realizada com hematoxilina de Harris. O controle negativo foi realizado com a utilização de solução salina tamponada Tris no lugar do anticorpo primário. Para os controles positivos, utilizaram-se tonsilas de bovinos.

## RESULTADOS

Durante o período analisado, foram necropsiados 34 bovinos com linfoma, dos quais 24 (70,6%) apresentavam envolvimento do SNC. Epidemiologicamente, todos os casos com envolvimento do SNC correspondiam a fêmeas da raça Holandesa, de idades que variaram entre 2,5 e 12 anos, com média e mediana correspondente a 5,9 e 6,0 anos, respectivamente.

A manifestação clínica neurológica mais comum foi a paresia de membros pélvicos (MP) (81,8%) que evoluiu para paralisia de MP em 9,1% desses casos. A tetraparesia foi observada em 18,2% dos casos. Um bovino apresentou paresia de membros torácicos previamente à tetraparesia. O período de evolução das alterações locomotoras relatadas variou de sete a 21 dias.

Em todos os bovinos o envolvimento do linfoma no SNC ocorreu apenas na medula espinhal. Em relação a distribuição anatômica, a proliferação neoplásica acometia uma (16,7% - 4/24) ou mais (83,3% - 20/24) regiões da medula espinhal. A região lombar foi a mais envolvida (23/24), seguida pela região sacral e cauda equina (20/24) (Fig. 1A), região cervical (5/24) e torácica (5/24). Quando se observou o envolvimento em mais de um local, as lesões eram multifocais (Fig. 1B) ou focalmente extensas, unindo uma localização anatômica a outra. Macroscopicamente, as massas tumorais eram disformes, de tamanhos variados, com coloração branca ou amarela, consistência macia e estavam localizadas no espaço epidural, periférica a paquimeninge (extradural) e associada ao tecido adiposo (Fig. 1C). Em dois casos, foi observada mielomalacia hemorrágica progressiva (ambos envolvendo o segmento lombossacral) (Fig. 1D). A lesão acometia principalmente a substância cinzenta, envolvia os cornos dorsais e ventrais da medula

espinhal e caracterizava-se, ao corte, por áreas vermelho-escuras e amolecidas com ocasionais cavitações.

Em todos os casos de linfoma bovino nesse estudo com envolvimento medular, observou-se acometimento concomitante em outros órgãos. Dentre os principais sítios de localização neoplásica, destacam-se os linfonodos (100% - 24/24), abomaso (79,2% - 19/24), coração (75% - 18/24) e rins (45,8% - 11/24).

Na avaliação histológica observou-se um padrão de distribuição difuso das células neoplásicas com predomínio extradural, e sem infiltração em meninges e cordão medular (Fig. 2A). A totalidade dos casos de linfoma neste estudo demonstrou imunomarcção citoplasmática para o anticorpo CD79 $\alpha$ , caracterizando os linfócitos com imunofenótipo B. De acordo com os critérios de classificação da REAL/WHO todos esses neoplasmas foram incluídos como linfomas de células B maduras. Dentro desse grande grupo, linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) foi observado em 95,8% (23/24) dos casos. Os subtipos classificados dentro do grupo dos LDGCB's foram em ordem decrescente: imunoblástico (60,9% - 14/23), centrobástico (26,1% - 6/23), anaplásico (8,7% - 2/23), e rico em células T (4,3% - 1/23).

Os linfomas imunoblásticos de grandes células B eram compostos, predominantemente, por células grandes, com núcleo eucromático redondo (cerca de 2-2,5 eritrócitos), cromatina dispersa ou granular grosseira, exibindo nucléolo único e central, com citoplasma escasso (Fig. 2B). As taxas de mitoses oscilaram entre duas a oito figuras por CMA (400x), com média de 3,4. Os LDGCB's centrobásticos eram formados por células grandes e de citoplasma escasso. Os núcleos eucromáticos, com diâmetro de 1,5 a 2,5 eritrócitos, eram altamente variáveis, redondos ou indentedados (clivados), exibindo nucléolos evidentes, frequentemente múltiplos, por vezes, associado a carioteca com cromatina dispersa ou granular grosseira (Fig. 2C). A taxa mitótica entre os casos teve em média de 6,3 (variando de duas a 12) figuras de mitoses por CMA (400x). Os LDGCB's anaplásicos eram compostos por células pleomórficas, de tamanhos variados, ocasionalmente com núcleos bizarros, além de frequentes células neoplásicas multinucleadas (Fig. 2D). As figuras de mitoses eram frequentes, com média de seis mitoses por CMA (400x). Muitas dessas células eram grandes, com diâmetro nuclear de aproximadamente três a quatro eritrócitos. Linfomas de grandes células B ricos em células T demonstraram um padrão celular heterogêneo e eram constituídos por pequenos e grandes linfócitos neoplásicos. A maioria (cerca de 80%) das células eram pequenas e apresentavam imunomarcção positiva para CD3 (linfócitos T). As células

neoplásicas grandes (cerca de 20%) possuíam imunofenótipo B e cerca de duas mitoses por CMA. O núcleo apresentava um ou mais nucléolos evidentes, cromatina dispersa e o citoplasma era moderado e basofílico.

Em 20,8% dos linfomas, os quais exibiam alta taxa mitótica, observou-se macrófagos em meio ao neoplasma com o citoplasma preenchido por linfócitos apoptóticos (macrófagos com corpos tingíveis), conferindo uma aparência histológica de céu estrelado ao linfoma.

O linfoma linfocítico de pequenas células B, também considerado um neoplasma de células B maduras (periférica), foi observado em um caso (4,2%). Histologicamente, era constituído por linfócitos com o citoplasma escasso, núcleo redondo e pequeno (cerca de um eritrócito), cromatina densa e nucléolo inconspícuo. Observou-se uma figura de mitose por CMA (400x).

Lesões medulares secundárias ao envolvimento dos linfomas enzoóticos no espaço epidural foram observadas em 54,2% dos casos. Essas alterações foram decorrentes das compressões exercidas pelas massas tumorais extradurais e consistiam, principalmente, de degeneração walleriana com formação de esferoides axonais. Os casos com mielomalacia hemorrágica (8,3% - 2/24) foram observadas na porção lombossacral, e caracterizavam-se por extensas áreas de hemorragia, vasculite neutrofílica, neovascularização, infiltrado de células gitter e malacia, predominantemente, na substância cinzenta. Os neurônios necróticos apresentavam o citoplasma retraído, hipereosinofílico e núcleo picnótico. Na substância branca remanescente desses casos, observou-se esferoides axonais, degeneração walleriana e infiltrado de neutrófilos.

## DISCUSSÃO

Em regiões produtoras de leite bovino o linfoma é o neoplasma mais comum e causa importantes perdas econômicas para essa categoria em diversas partes do mundo. (JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002, TRAININ; BRENNER, 2005). Na Região Sul do Brasil, foi apontado como uma das principais causas de morte em vacas leiteiras, destacando-se como a enfermidade neoplásica mais frequente (MELLO *et al.*, 2017). Fêmeas de raças leiteiras representam a categoria mais predisposta ao envolvimento dos linfomas nesse estudo. A alta prevalência em vacas de leite deve-se principalmente à longevidade e às práticas intensivas comuns a essa categoria, o que propicia a propagação do VLB (DIGIACOMO, 1992; HOPKINS; DIGIACOMO, 1997). A predominância de

fêmeas é uma característica esperada, devido à proporção menor de machos em rebanhos de leite (MARSHAK *et al.*, 1962). Além disso, a alta susceptibilidade de fêmeas pode estar relacionada também ao papel imunossupressor do estresse fisiológico, que é gerado pela alta demanda na produção de leite (WU; SHANKS; LEWIN, 1989). Estudos demonstram que pode haver suscetibilidade genética em alguns rebanhos como fator predisponente no desenvolvimento de linfomas (JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002, THURMOND, 2006, AIDA *et al.*, 2013). Os bovinos acometidos por linfoma no presente estudo apresentaram idade média de seis anos, o que constitui um achado epidemiológico importante da doença. Dados semelhantes são amplamente descritos na literatura e demonstram uma apresentação frequente do linfoma em faixas etárias maiores de dois anos, com pico de incidência entre quatro e oito anos (DIGIACOMO, 1992; SCHWARTZ; LEVY, 1994, KABEYA; OHASHI; ONUMA, 2001). Os bovinos de corte, não observados no presente estudo, geralmente são menos acometidos devido ao curso longo da enfermidade e a práticas de manejos menos intensivas (JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002, THURMOND, 2006, RADOSTITS *et al.*, 2007).

O linfoma extradural em bovinos além de ser uma apresentação comum na doença multicêntrica, é a principal neoplasia compressiva dessa espécie (FERRER, 1980, REBHUN *et al.*, 1984, SHERMAN, 1987; JACOBS; MESSICK; VALLI, 2002, DE LAHUNTA; DIVERS, 2008, BURTON *et al.*, 2010). As alterações locomotoras nos membros pélvicos (paresia e paralisia), frequentemente relatadas nos bovinos estudados, são manifestações neurológicas comuns e decorrentes da ação tumoral compressiva exercida na região lombossacral, que é o local observado com maior frequência de infiltração neoplásica (THURMOND, 2006; DE LAHUNTA; DIVERS, 2008; DE LAHUNTA; GLASS, 2009, WASHBURN, 2017). Os sinais clínicos de tetraparesia e paresia de membros torácicos, relacionados respectivamente à compressão medular nas regiões craniocervical e caudocervical, foram menos descritos devido à pouca frequência das massas tumorais nessas regiões (DE LAHUNTA; GLASS, 2009). Em nenhum caso houve infiltração vertebral óssea pelo linfoma. Esse comportamento é raramente descrito e observado principalmente em bovinos jovens na forma esporádica da doença (THEILEN; DUNGWORTH, 1965, BUNDZA *et al.*, 1980, OLIVER-ESPINOSA *et al.*, 1994). O envolvimento do encéfalo em casos de linfoma em bovinos pode ocorrer, entretanto é considerado raro (SWEENEY *et al.*, 1986; SHERMAN, 1987, BRAUN; JEHLE; SOLDATI, 2005, TAWFEEQ *et al.*, 2012), e não foi observado no presente estudo.

A patogênese do linfoma extradural ainda permanece incerta. Apesar da controversa presença de tecido linfóide ao redor do plexo venoso epidural, sugere-se que o linfoma no canal medular possam ser formados primariamente desse local (DRAKE, 1941). Entretanto na doença sistêmica acredita-se que o estabelecimento do linfoma nessa região possa advir de outras origens. Observa-se ainda que a propagação possa ocorrer através da região paravertebral para o interior do canal, pelo forame intervertebral (CUGATI *et al.*, 2011). Dessa forma, as massas tumorais podem ser observadas ao redor das estruturas paravertebrais, como vasos e nervos espinhais (MULLINS *et al.*, 1971, VALLI *et al.*, 2016). Outra origem sugerida é a que infiltração de linfócitos neoplásicos ocorra através da via hematogênica, através do plexo venoso epidural, importante rota para o estabelecimento de neoplasmas nessa região (HARRINGTON, 1986, MACCAURO *et al.*, 2011). O plexo venoso vertebral, do qual os vasos epidurais fazem parte, é caracterizado por ser uma rede venosa com paredes muito finas, desprovida de válvulas e de fibras musculares (BATSON, 1957, DYCE SACK; WENSING, 2010). A conexão desse sistema com as veias torácicas, abdominais e pélvica permite o fluxo retrógrado para o interior da coluna espinhal quando ocorre elevação da pressão nessas cavidades (BATSON, 1940). Em um experimento realizado em ratos e coelhos, foram observados que 70% dos casos apresentavam desenvolvimento tumoral na região lombar após a injeção de células tumorais na veia femoral e mediante a elevação da pressão abdominal (COMAN; DELONG, 1951).

A mielomalacia hemorrágica, observada em dois bovinos estudados, representa uma desordem neurovascular secundária a injúria medular compressiva (DE LAHUNTA; GLASS, 2009). Esse tipo de alteração ocorre frequentemente em caninos, normalmente associado a pressões extramedulares em cães com doença do disco intervertebral (ZILIO; ARIAS, 2013). Linfoma como causa de mielomalacia hemorrágica já foi descrito em equinos (ROUSSEAU *et al.*, 1989), felinos (LAISSE *et al.*, 2017) e cães (ZILIO; ARIAS, 2013), sem descrições em bovinos no conhecimento dos autores. Os distúrbios hemodinâmicos ocasionados pela compressão epidural geram estase vascular, falha na perfusão tecidual, extravasamento de proteínas plasmática, aumento da perfusão osmótica e conseqüentemente edema (VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012). O efeito acumulativo desses processos patológicos em associação a mediadores inflamatórios que provocam vasoespasmos, ocasionam a lesão da medula espinhal (MAUTES *et al.*, 2000). Além disso, a substância cinzenta tende a ser severamente

afetada em relação a substância branca, devido à alta taxa metabólica (DE RISIO; PLATT, 2010), assim como observado nos casos aqui apresentados.

De acordo com os critérios de classificação da REAL/WHO, todos os linfomas desse estudo foram incluídos como de células B maduras. Dentro desse grande grupo, linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) foi a subclassificação mais comum, abrangendo aproximadamente 95% dos tumores. Em bovinos esse é o principal grupo de linfomas e está relacionado principalmente à forma enzoótica (VERNAU *et al.*, 1992, VERNAU *et al.* 1997, PANZIEIRA *et al.*, 2016). Esse tipo de linfoma é considerado agressivo e de crescimento rápido. Apesar da frequência maior nos linfonodos, pode ser encontrado em qualquer tecido (VALLI *et al.*, 2016). A patogênese do BLV no desenvolvimento específico desse tipo de linfoma não está totalmente elucidada. Sabe-se que esse vírus provoca uma proliferação clonal de células B, cuja a severidade da doença aumenta conforme o número de cópias pró-virais (AIDA *et al.*, 2013). Altas taxas proliferativas induzidas pelo BLV podem ser responsáveis pela perda de diferenciação, explicando dessa forma a baixa ocorrência de linfomas foliculares em bovinos (VERNAU *et al.*, 1992). Apesar do envolvimento viral não ser uma premissa para o desenvolvimento de LDGCB's, sua ocorrência também tem sido relacionada a agentes virais em outras espécies. Em felinos, os linfomas podem estar associados ao vírus da leucemia felina (FeLV) e da imunodeficiência felina (FIV) e em humanos ao vírus Epstein-Barr (EBV) e ao da hepatite C (HCV) (CALLANAN *et al.*, 1996, HOELLER *et al.*, 2010, VISCO; FINOTTO, 2014, VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016).

Em cães, os LDGCB's representam aproximadamente 50% dos linfomas, composto principalmente pelo subtipo centroblastico e menos frequentemente pelo imunoblástico (VEZZALI *et al.*, 2010, VALLI *et al.*, 2010). Ao contrário do visto em cães, o linfoma imunoblástico foi mais frequente que o centroblastico nos bovinos estudados. Entretanto no que diz respeito a esses dois subtipos, não existem diferenças clínicas ou terapêuticas, uma vez que ambos são apenas variantes morfológica que podem coexistir dentro da mesma neoplasia (VALLI *et al.*, 2016). Linfoma anaplásico é um dos subtipos do LDGCB menos observado entre as diferentes espécies (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Em humanos esse subtipo é mais agressivo do que os linfomas anaplásicos de células T (WEISENBURGER *et al.*, 2001). Nos bovinos estudados o subtipo rico em células T do LDGCB foi o menos frequente, entretanto em equinos este é o principal, abrangendo cerca de metade dos linfomas (DURHAM *et al.*, 2012).

## CONCLUSÃO

O envolvimento da medula espinhal foi observado na maior parte dos bovinos com linfoma, e afetou vacas de aptidão leiteira, adultas e com média de idade de seis anos.

As manifestações clínicas locomotoras foram caracterizadas principalmente por paresia de membros pélvicos.

Em todos os bovinos o envolvimento do linfoma na medula espinhal ocorreu no espaço epidural, associado ao tecido adiposo (extradural). Frequentemente a distribuição neoplásica foi multifocal, e as regiões mais acometidas foram as regiões lombar e sacral. A mielomalacia hemorrágica ocorreu em bovinos com linfoma extradural medular.

De acordo com os critérios de classificação pela WHO, todos os linfomas foram incluídos como de células B maduras e o linfoma difuso de grandes células B foi o tipo mais comum.



## REFERÊNCIAS

- AIDA, Y. *et al.* Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p.1-11, 2013.
- BATSON, O. V. The function of the vertebral veins and their role in the spread of metastases. **Annals of Surgery**. v. 112, n. 1, p.138–149, 1940
- BATSON, C. V. The vertebral veins system. **American Journal of Roentgenology**. v. 78, n. 2, p. 195-212, 1957.
- BOES, K. M.; DURHAM, A. C. Bone marrow, Blood cells, and the lymphatic system/lymphoid system. In: ZACHARY, J. F. (Org.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 6 ed. St. Louis, MO: Mosby Inc, 2017. cap.13. p. 794.
- BUNDZA, A. *et al.* Sporadic bovine leukosis: A description of eight calves received at Animal Diseases Research Institute from 1974-1980. **Canadian Veterinary Journal**. v. 21, n. 10, p. 280-283, 1980.
- BRAUN, U.; JEHLE, W.; SOLDATI, G. Malignant cerebellar lymphoma in a calf. **Veterinary Record**, [S.l.], v. 156, n. 7, p. 215-216, 2005. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.156.7.215>
- BURTON, A. J. *et al.* Signalment and clinical complaints initiating hospital admission, methods of diagnosis, and pathological findings associated with bovine lymphosarcoma (112 cases). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 24, n. 4, p. 960-964, 2010.
- CALLANAN, J. J. *et al.* Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 264-272, 1996.
- COMAN, D. R.; DELONG, R. P. The role of the vertebral venous system in the metastasis of cancer to the spinal column. Experiments with tumor-cell suspensions in rats and rabbits. **Cancer**, [S.l.] v. 4, n. 3, p. 610-618, 1951. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(195105\)4:33.0.co;2-q](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(195105)4:33.0.co;2-q).
- CUGATI, G. *et al.* Primary spinal epidural lymphomas. **Journal of Craniovertebral Junction and Spine**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 3-11, 2011. <http://dx.doi.org/10.4103/0974-8237.85307>
- DE LAHUNTA, A.; DIVERS, T. J. Neurologic diseases. In: DIVERS, T. J., PEEK, S. (Ed.). **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. 2. ed. St Louis: Elsevier, 2008, cap. 12, p. 504–560.
- DE LAHUNTA, A., GLASS, E. **Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology**. 3. Ed. St Louis: Saunders, 2009, v. 1, p. 450.
- DE RISIO, L.; PLATT, S. R. Fibrocartilaginous embolic myelopathy in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.l.], v. 40, n. 5, p. 859-869, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.05.003>.

DIGIACOMO, R. F. The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. **Veterinary Medicine**, [S.l.], n. 3, p. 248-257, 1992.

DRAKE, R. L. Lymphosarcoma involving the epidural space. **Journal of the Kansas Medical Society**, [S.l.], v. 42, p. 212-222, 1941

DURHAM, A. C. *et al.* Two hundred three cases of equine lymphoma classified according to the World Health Organization (WHO) classification criteria. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 50, n. 1, p. 86-93, 2012.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. O sistema nervoso. **Tratado de anatomia veterinária**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, cap. 8, 813 p.

FERRER, J. F. Bovine lymphosarcoma. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, [S.l.], v. 24, p. 01-68, 1980.

GARRY, F. Miscellaneous infectious diseases. In: DIVERS T. J.; PEEK S. F. (Eds). **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. 2. ed. St Louis: Elsevier. 2008, cap 15, p. 606-639.

HARRINGTON, K. D. Metastatic disease of the spine. **Journal of Bone and Joint Surgery**, [S.l.], v. 68, n. 7, p. 1110–1115, 1986.

HOELLER, S. *et al.* Epstein-Barr virus–positive diffuse large B-cell lymphoma in elderly patients is rare in Western populations. **Human Pathology**, v. 41, n. 3, p. 352-357, 2010.

HOPKINS, S. G.; DIGIACOMO, R. F. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 107-128, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30367-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30367-4).

JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the Hemolymphatics System. In.: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2002, cap. 3, p. 128-161.

KABEYA, H.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Host immune responses in the course of bovine leukemia virus infection. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 63, n. 7, p. 703-708, 2001.

LAISSE, C. J. M. *et al.* Haemorrhagic myelomalacia in a cat with extradural T-cell lymphoma. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 38, n. 1, p. 327-334, 2017. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n1p327>.

MACCAURO, G. *et al.* Physiopathology of spine metastasis. **International Journal of Surgical Oncology**, [S.l.], v. 2011, p. 1-8, 2011. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/107969>.

MAUTES, A. E. M. *et al.* Vascular events after spinal cord injury: contribution to secondary pathogenesis. **Physical Therapy**, [S.l.], v. 80, n. 7, p. 673-687, 2000.

MARSHAK, R. R., *et al.* Studies on bovine lymphosarcoma. I. Clinical aspects, pathological alterations, and herd studies. **Cancer Research**, [S.l.], v. 22, n.2, p. 202-217. 1962.

MELLO, L. S. *et al.* Causas de morte em vacas leiteiras no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.l.], v. 37, n. 9, p. 916-920, 2017.

MULLINS, G. M. *et al.* Malignant lymphoma of the spinal epidural space. **Annals of Internal Medicine**, [S.l.], v. 74, n. 3, p. 416-23, 1971

NCI-National Cancer Institute. Sponsored study of classification of non-Hodking's lymphomas: summary and description of a Working Formulation for a clinical usage. **Cancer**, Philadelphia, v. 48, p. 2112-2135, 1982.

OLIVER-ESPINOSA, O. *et al.* Sporadic bovine leukosis with ataxia and tibiotarsal joint swelling: A case report. **Canadian Veterinary Journal**, [S.l.], v. 35, p. 777-779, 1994.

ONUMA, M. *et al.* Studies on the sporadic and enzootic forms of bovine leukosis. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 89, n. 2, p. 159-167, 1979. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9975\(79\)90055-0](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9975(79)90055-0).

PANZIERA, W. *et al.* Classificação de 86 casos de linfoma em bovinos de acordo com a Working Formulation (WF) of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage e a Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.l.], v. 36, n. 4, p. 263-271, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016000400003>.

PARODI, A. L. Classification of malignant lymphoma in domestic animals: History and conceptual evolution. **European Journal of Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 43-50, 2001.

PONCE, F. *et al.* A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 47, n. 3, p. 414-433, 2010. <http://dx.doi.org/10.1177/0300985810363902>.

RADOSTITS, M. O. *et al.* Diseases associated with viruses and Chlamydia - I, In: \_\_\_\_\_ . (Ed), **Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10. ed. Edinburg: Saunders Elsevier, 2007, cap. 18, p. 1157-1305.

REBHUN W. C. *et al.* Compressive neoplasms affecting the bovine spinal cord. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, [S.l.], v. 6, p. 396-400, 1984.

ROUSSEAU C. G. *et al.* Epidural lymphosarcoma with myelomalacia in a seven-year-old Arabian gelding. **Canadian Veterinary Journal**, [S.l.], v. 30, n. 9, p. 751-753, 1989.

SCHWARTZ, I.; LEVY, D. Pathobiology of bovine leukemia virus. **Veterinary Research**, v. 25, n. 6, p. 521-536, 1994.

SHERMAN, D. M. Localized Diseases of the Bovine Brain and Spinal Cord. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 179-191, 1987. [http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)31189-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720(15)31189-0).

SUEIRO, F. A. R.; ALESSI, A. C.; VASSALLO, J. Canine lymphomas: a morphological and immunohistochemical study of 55 cases, with observations on p53 immunoexpression. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 131, n. 2-3, p. 207-213, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.04.002>.

SWEENEY, R.W. *et al.* Intracranial lymphosarcoma in a Holstein bull. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 189, n. 5, p. 555-556, 1986.

TAWFEEQ, M. M. *et al.* Thymic lymphosarcoma with brain involvement in a Holstein heifer. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 74, n. 11, p. 1501-1504, 2012. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.12-0210>.

THEILEN, G. H.; DUNGWORTH, D. L. Bovine lymphosarcoma in California III. The calf form. **American Journal of Veterinary Research**, [S.l.], v. 26, p. 696-708, 1965.

THURMOND, M. C. Linfossarcoma bovino. In: SMITH, B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, 2006, cap. 35, p. 1067-1071.

TRAININ, Z.; BRENNER, J. The direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, [S.l.], v. 60, n. 4, p. 94-105, 2005.

VALLI, V. E. *et al.* Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p.198-211, 22 set. 2010. <http://dx.doi.org/10.1177/0300985810379428>.

VALLI, V. E. *et al.* The hematopoietic system. In: MAXIE M. G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6 ed. Philadelphia: Saunders Elseveier. 2016, v.3, cap. 2, p.107-324.

VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the Hemolymphatic System. In: MEUTEN, D. J. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. 5. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2016, cap. 7. p. 203-321.

VANDEVELDE, M.; HIGGINS, R. J.; OEVERMANN, A. Trauma. **Veterinary neuropathology. Essentials of theory and practice**. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2012, cap. 4, p. 83-84.

VERNAU, W. *et al.* Classification of 1,198 cases of bovine lymphoma using the National Cancer Institute Working Formulation for human non-hodgkin's lymphomas. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 29, n. 3, p. 183-195, 1992. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589202900301>.

VERNAU, W. *et al.* The immunophenotypic characterization of bovine lymphomas. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 34, n. 3, p. 222-225, 1997. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589703400307>.

VEZZALI, E. *et al.* Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Veterinary and Comparative Oncology**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 38-49, 2010.

VISCO, C.; FINOTTO, S. Hepatitis C virus and diffuse large B-cell lymphoma: Pathogenesis, behavior and treatment. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 32, p. 11054-11061, 2014.

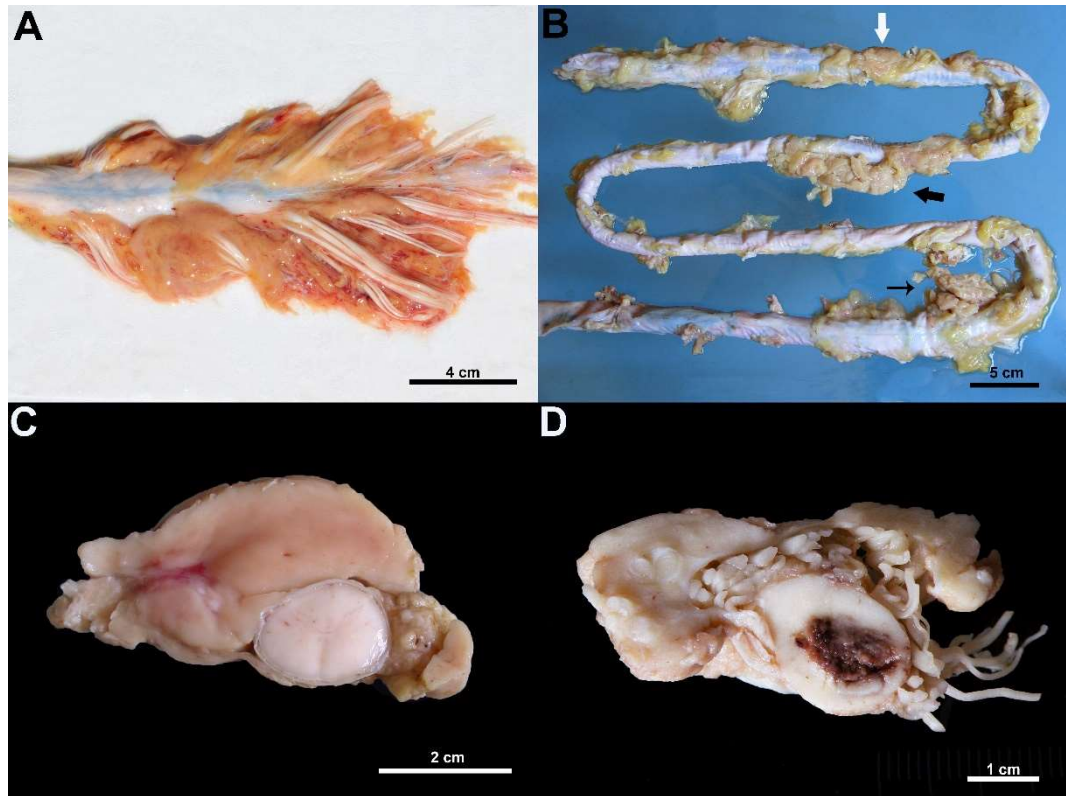
WASHBURN, K. E. Localization of neurologic lesions in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 33, n. 1, p. 19-25, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.09.003>.

WEISENBURGER, D. D. *et al.* Systemic anaplastic large-cell lymphoma: Results from the non-Hodgkin's lymphoma classification project. **American Journal of Hematology**, [S.l.], v. 67, n. 3, p. 172-178, 2001. <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.1102> .

WU, M. C., SHANKS, R. D.; LEWIN, H. A. Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S.l.], v. 86, n. 3, p. 993–996, 1989.

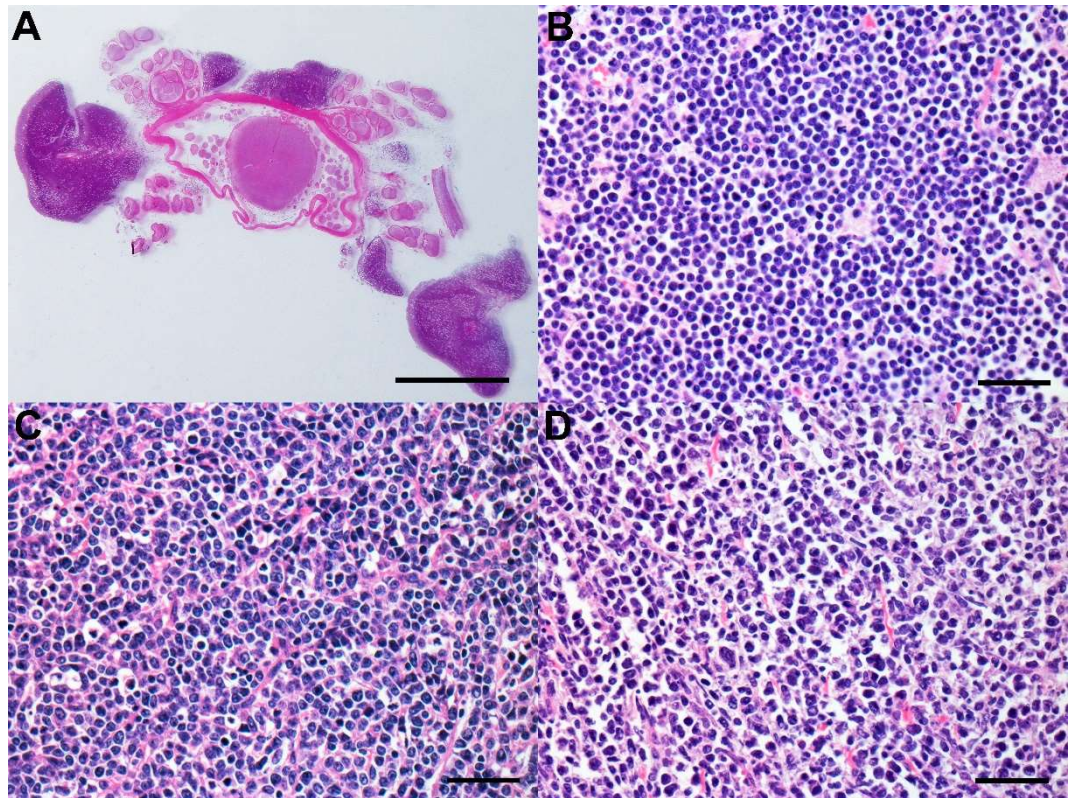
YIN, S. *et al.* Relation between phenotype of tumor cells and clinicopathology in bovine leukosis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 5, p. 599-606, 2003. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.65.599>.

ZILIO, D. M.; ARIAS, M. V. B. Mielomalacia hemorrágica progressiva em 14 cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.l.], v. 33, n. 2, p. 219-228, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2013000200014>.



**Figura 1. Linfoma em medula espinhal de bovinos. Aspectos macroscópicos.** **A)** Distribuição focalmente extensa do linfoma em região sacral e cauda equina. **B)** Distribuição multifocal do linfoma em região cervical (seta fina), torácica (seta escura) e lombar (seta clara) medular. **C)** Medula espinhal da região lombar. Distribuição extradural do linfoma medular dos bovinos. **D)** Medula espinhal segmento sacral. Mielomacia hemorrágica associada a compressão extradural pelo linfoma.





**Figura 2. Linfoma de medula espinhal em bovinos. Aspectos histopatológicos** **A)** Aspecto submacroscópico da distribuição neoplásica extradural do linfoma na medula espinhal (segmento sacral). HE, bar 1 cm **B)** Linfoma difuso de grandes células B tipo imunoblástico. Proliferação neoplásica de linfócitos grandes com núcleos eucromáticos e redondos. HE, bar. 100 $\mu$ m. **C)** Linfoma difuso de grandes células B tipo centroblástico. Proliferação neoplásica difusa de células grandes, com citoplasma escasso, núcleos variáveis de redondo a clivado com núcleos evidentes e frequentemente múltiplos. HE, bar. 100 $\mu$ m. **D)** Linfoma difuso de grandes células B tipo anaplásico. Proliferação neoplásica de células pleomórficas, grandes, com núcleos bizarros. HE, bar 100  $\mu$ m.

### **3 ARTIGO 2**

Nesse item é apresentado o artigo intitulado **“LINFOMA NO SISTEMA NERVOSO DE FELINOS: ASPECTOS PATOLÓGICOS, IMUNO-HISTOQUÍMICOS E ETIOLÓGICOS EM 16 GATOS”**



**LINFOMA NO SISTEMA NERVOSO DE FELINOS: ASPECTOS  
PATOLÓGICOS, IMUNO-HISTOQUÍMICOS E ETIOLÓGICOS EM 16  
GATOS**

**FELINE LYMPHOMA IN THE NERVOUS SYSTEM: PATHOLOGICAL,  
IMMUNOHISTOCHEMICAL AND ETIOLOGICAL ASPECTS IN 16 CATS**

**RESUMO**

Os aspectos patológicos, imuno-histoquímicos (IHQ) e etiológicos do linfoma envolvendo o sistema nervoso de felinos foram analisados através de um estudo retrospectivo (período de 2004-2017) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O envolvimento do sistema nervoso foi observado em 16 (12,2%) dos 125 felinos com linfoma desse estudo e afetou principalmente, jovens com idade mediana de 24 meses. A grande maioria dos casos o linfoma era secundário no sistema nervoso central e somente em três gatos o linfoma foi primário do sistema nervoso. Na IHQ, 14 (87,5%) casos foram positivos para FeLV, seis (37,5%) para FIV, e um foi negativo para ambos. A distribuição do linfoma no sistema nervoso foi em 8/16 felinos na medula espinhal, 7/16 no encéfalo e em 1/16 em nervos e gânglios paravertebrais (neurolinfomatose). Na medula espinhal, o padrão do linfoma foi exclusivamente extradural e frequentemente focal (6/8), localizadas nos segmentos lombares (3/6), sacrais (1/6), torácicos (1/6) e cervicais (1/6). No encéfalo, os padrões neuroanatômicos observados foram: linfomatose leptomeningeal (4/7), coroidite linfomatosa (2/7), linfoma intradural (1/7). No felino diagnosticado com neurolinfomatose primária, foi observado acentuado espessamento dos nervos e gânglios paravertebrais da região sacral. Os linfomas de células de células B (75%) foram os mais frequentes e o principal tipo foi o linfoma difuso de grandes células B (11/16). Os linfomas de células T (25%), menos observados, foram classificados como linfomas de células T periférico inespecífico (3/16) e linfoma linfoblástico T (1/16).

**Palavras-chaves:** Neuropatologia, FeLV, linfoma extradural, linfomatose leptomeningeal, coroidite linfomatosa, neurolinfomatose.

### ABSTRACT

The pathological, immunohistochemical (IHC) and etiological features of lymphoma involving the nervous system (NS) in cats were analyzed through a retrospective study (2004-2017) in Rio Grande do Sul state, Brazil. The NS involvement was observed in 16 (12.2%) of 125 felines with lymphoma. Young cats were mainly affected, with a median of 24 months-old. Most of the cases were secondary central NS lymphoma, while in three cats the NS involvement was primary. IHC revealed that 14 (87.5%) FeLV-positive, six FIV-positive, one FeLV/FIV-negative. Distribution of feline lymphoma in the NS were 8/16 in spinal cord, 7/16 in brain and 1/16 in paravertebral nerves and ganglia (neurolymphomatosis). Lymphoma pattern in the spinal cord was exclusively extradural, often focal (6/8), and located in segments lumbar (3/6), sacral (1/6), thoracic (1/6) and cervical (1/6). Brain neuroanatomical patterns were: leptomeningeal lymphomatosis (4/7), lymphomatous choroiditis (2/7), intradural lymphoma (1/7). The feline with primary neurolymphomatosis presented a marked thickening of paravertebral nerves and ganglia from sacral region. The B-cell lymphomas (75%) were often diagnosed, and the diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) (11/16) was the main subtype. The T-cell lymphomas (25%) were less commonly observed, and were classified in peripheral T-cell lymphoma (PTCL) (3/16) and T-cell lymphoblastic lymphoma (T-LBL) (1/16).

**Key-words:** Neuropathology, FeLV, extradural lymphoma, leptomeningeal lymphomatosis, lymphomatous choroiditis, neurolymphomatosis.

## INTRODUÇÃO

O linfoma é o neoplasma mais comum de felinos, principalmente, nos animais jovens, e representa cerca de 90% dos tumores hematopoiéticos de gatos, cuja prevalência é a mais alta que em qualquer espécie animal (HARDY, 1981, SCHMIDT *et al.*, 2010). Os linfomas em felinos se originam principalmente dos linfonodos e menos frequentemente de outros locais como baço, fígado, tonsila, trato gastrointestinal e cavidade nasal (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Essa neoplasia pode ser classificada de acordo com sua localização anatômica, das quais em felinos as mais comuns são as formas multicêntricas e alimentar (REINACHER, 1989, SATO *et al.*, 2014, VALLI *et al.*, 2016). Atualmente a principal classificação utilizada para linfomas é a formulada pela Organização Mundial da Saúde (WHO), recentemente adaptada para animais e já utilizada para classificação dos linfomas em felinos (VEZZALI *et al.*, 2010, VALLI *et al.*, 2016). A principal finalidade desse sistema de classificação é a de correlacionar histotipos (fenotípicos e imunofenotípicos) e comportamento biológico (VEZZALI *et al.*, 2010, VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016).

O linfoma é a principal neoplasia do sistema nervoso central (SNC) de felinos e ocorre com mais frequência na medula espinhal do que no encéfalo (TROXEL *et al.*, 2003; TOMEK *et al.*, 2006, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008). O envolvimento do sistema nervoso (SN) ocorre em média em 12% de gatos com linfoma e geralmente em consequência da forma multicêntrica (LANE *et al.*, 1994, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008). Há uma ampla gama de padrões de distribuição do linfoma no sistema nervoso de felinos. Entretanto, existem poucos trabalhos que classificam o linfoma do SN de gatos, especialmente que correlacionam os diferentes padrões e tipos de linfoma (MANDARA; MOTTA; CALÒ, 2016). Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é abordar os aspectos epidemiológicos, e anatomopatológicos dos linfomas em sistema nervoso de felinos, além de classificar essa neoplasia de acordo com a WHO visando associá-la aos padrões de distribuição do linfoma no SN.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os arquivos dos exames de necropsias de felinos com diagnóstico de linfoma durante o período de janeiro de 2004 a janeiro de 2017 e foram selecionados os casos com envolvimento do sistema nervoso (SN). Todos os felinos eram oriundos da Região Metropolitana de Porto Alegre, do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os dados

referentes à idade, à raça, e ao sexo foram agrupados e registrados. Foram analisados macroscopicamente a localização do linfoma no SN, bem como os demais sítios extraneurais. As formas anatômicas observadas do linfoma foram classificadas de acordo com Gabor, Malik e Canfield (1998).

Através de lâminas histológicas coradas com hematoxilina e eosina (HE) foi realizada a análise do padrão de distribuição neuroanatômico do linfoma no SN, nomeados de acordo com Mandara *et al.* (2016). A análise imunofenotípica dos linfócitos neoplásicos foi realizada através do sistema de classificação REAL/WHO com aplicação para uso animal (VALLI *et al.*, 2016). Para essa classificação, foi realizada a técnica de imuno-histoquímica (IHQ) com os anticorpos primários CD79 $\alpha$ , para identificar linfócitos B e CD3, para linfócitos T. Além disso, também foi realizado IHQ para FIV e FeLV. As técnicas foram realizadas em secções histológicas montadas em lâminas positivadas, previamente desparafinadas e hidratadas, e foram incluídos controles positivos previamente testados. Para o controle negativo, foi substituído o anticorpo primário por tampão fosfato-salino (PBS). Os dados acerca das técnicas realizadas e os anticorpos empregados podem ser visualizados na Tabela 1.

## RESULTADOS

O envolvimento do SN foi observado em 16 (12,8%) dos 125 felinos diagnosticados com linfoma no período estudado. Os felinos com acometimento do SN eram compostos por nove fêmeas (56,3%) e sete machos (43,7%). Desses, 15 (93,75%) eram sem raça definida e um era siamês. As idades variaram de seis a 156 meses, com mediana de 24 meses. Dos 16 felinos com linfoma envolvendo o SN, três foram considerados linfomas primários do SN e os restantes (13 casos) como secundários (apresentação multicêntrica). Em 14 felinos (87,5%) houve marcação na IHQ para FeLV, e em seis (37,5%) para FIV, e apenas um caso foi negativo para ambos. Segundo sua distribuição, 8/16 felinos apresentavam o acometimento da medula espinhal, 7/16 do encéfalo e 1/16 de nervos e gânglios paravertebrais. As formas observadas de acordo com a classificação anatômica foram: mista (6/16), atípica (6/16), mediastinal (3/16) e abdominal (1/16).

Na análise imuno-histoquímica (IHQ) dos 16 casos de linfomas do SN em 75% (12/16) houve imunomarcção para CD79 $\alpha$  (linhagem de células B) e em 25% (4/16) imunomarcção para CD3. Todos os linfomas positivos na IHQ para CD79 $\alpha$  eram neoplasmas de células B maduras e foram classificados como linfoma difuso de grandes

células B (LDGCB - 11/16) e *Burkitt-like* (LBL-1/16). Dentro do grupo dos LDGCB's foram classificados os subtipos como imunoblástico (I) (7/11), centroblástico (C) (2/11) e rico em células T (2/11). Os quatro casos positivos para CD3, três foram classificados como linfomas de células T periférico inespecífico (LPCTI- células T maduras) e um como linfoma linfoblástico de célula T (LLT- células T percussoras).

### **Linfoma de medula espinhal**

Os oitos felinos com linfoma em medula espinhal tinham idades que variaram de 6 a 96 meses com média e mediana de idade respectivamente de 38,5 e 24 meses e todos foram positivos na IHQ para FeLV, e um positivo de maneira concomitante para FIV. Em dois felinos o linfoma era exclusivo na medula espinhal, e foram classificados como linfomas primários do SNC. Esses apresentaram idades de 12 e 48 meses, todos FeLV positivos e um também positivo para FIV na IHQ. Os outros seis casos eram secundários, e desses em um caso também estava presente em leptomeninges do encéfalo. Nesses seis casos os linfonodos (5/6) da cavidade abdominal foram frequentemente afetados.

Na medula espinhal a neoplasia foi observada em todos os casos no espaço epidural, com localização periférica à meninge (extradural) e associada ao tecido adiposo do canal medular. Macroscopicamente, as massas tumorais eram disformes, de tamanhos variados, com coloração branca a amarela e consistência macia. A distribuição focal do linfoma na medula espinhal foi observada em 6/8 casos (fig. 1A), localizadas nos segmentos lombares (3/6), sacrais (1/6), torácicos (1/6) e cervicais (1/6). Quando o envolvimento era multifocal (2/8) (fig. 1B), todas as regiões medulares foram afetadas. Em 6/8 casos havia infiltração neoplásica do osso vertebral e de musculatura paravertebral adjacente ao linfoma extradural. Em três casos, dos quais dois eram primários de medulas espinhal, foi observado mielomalácia hemorrágica progressiva (ambos envolvendo o segmento lombossacral) (fig. 1C). A lesão acometia, principalmente, a substância cinzenta, envolvia os cornos dorsais e ventrais da medula espinhal e caracterizava-se ao corte, por áreas vermelho-escuras e amolecidas, com ocasionais cavitações.

O padrão neuroanatômico do linfoma predominante em medula espinhal foi o extradural (8/8) (fig. 1D). Em seis felinos o linfoma era de células B e em dois de células T. Esses foram classificados como: LBL (1/8), LPCTI (2/8), LDGCB- I (5/8). Em 50% (4/8) desses felinos foram observadas lesões medulares secundárias a ação compressiva exercida pelo linfoma extradural. A principal alteração observada foi a mielomalácia

hemorrágica (3/8), localizada na porção lombossacral que por vezes estendia-se até a região torácica. As lesões foram caracterizadas por extensas áreas de hemorragia, vasculite neutrofílica, neovascularização, infiltrado de células gitter e malacia, predominantemente na substância cinzenta. Os neurônios necróticos apresentavam o citoplasma retraído, hipereosinofílico e núcleo picnótico. Na substância branca remanescente desses casos, havia ainda degeneração walleriana com formação de esferoides axonais e infiltrado de neutrófilos.

### **Linfoma em encéfalo**

Nos felinos com linfoma em encéfalo (7/16) as idades variaram de 18 a 156 meses, com média e mediana de 41 e 24 meses respectivamente. Na IHQ quatro eram FeLV positivos (Fig. 2F), dois eram FIV/FeLV positivos, um somente FIV positivo e um negativo para ambos os agentes virais. No encéfalo, na maioria dos casos não foram observados alteração macroscópica decorrente da infiltração tumoral. Apenas em um felino a dura-máter apresentou-se espessada e de aspecto rugoso (fig. 2A). O envolvimento no encéfalo em todos os sete casos foi considerado secundário (apresentação multicêntrica da doença) com envolvimento concomitante do fígado (6/7), intestinos (4/7), rim (4/7) e linfonodos (4/7).

No encéfalo foram observados três tipos de distribuição tumoral neuroanatômica, relativa a infiltrado neoplásica em leptomeninges (linfomatose leptomeningeal - 4/7), plexo coroide (coroidite linfomatosa - 2/7) e dura-máter (intradural - 1/7).

Os felinos observados com linfomatose leptomeningeal foram classificados como: LDGCB-I (2/4), 1 LPCTI (1/4) e LLT (1/4). Os linfócitos neoplásicos infiltravam de maneira difusa os espaços leptomeningiais (fig. 2B), além do espaço perivascular do neurópilo adjacente (fig. 2C). Em um caso de linfomatose leptomeningeal (classificado como LDGB-I) também foi observado células neoplásicas concomitante em plexo coroide. Na coroidite linfomatosa todos os linfomas foram classificados como LDGCB - C (2/2), observados infiltrando de maneira difusa o plexo coroide do quarto ventrículo e dos ventrículos laterais (fig. 2D). Havia ainda congestão dos vasos de plexo coroide, e por vezes efusão de material proteináceo em associação a exsudação de células para o interior do lúmen ventricular. No caso de infiltração intradural, as células neoplásicas classificadas como LDGCB rico em células T foram observadas somente na dura-máter do encéfalo, distribuídas de maneira difusa e associadas a áreas multifocais de

mineralização da paquimeninge (fig. 2E). Essa apresentação foi responsável pelo o único caso observado com alteração macroscópica em encéfalo.

### **Neurolinfomatose**

Houve somente um caso de neurolinfomatose, esse ocorreu em um felino, macho de 72 meses, SRD, FeLV positivo. A lesão era exclusiva no SN (linfoma primário do SN) e macroscopicamente havia espessamento acentuado de nervos e gânglios paravertebrais da região sacral, de consistência macia e coloração amarelada (fig. 3A). Nesse caso caracterizado como neurolinfomatose primária (linfoma primário de sistema nervoso periférico), foi observado linfócitos neoplásicos classificados como LDGCB rico em células T. As células infiltravam de maneira difusa no par de nervos espinhais da região sacral, além de gânglio e raízes nervosas (fig. 3B e 3D). Associado ao infiltrado neoplásico em nervos, havia degeneração walleriana com formação de câmara de digestão e esferoides axonais (fig. 3C). Em segmento de medula espinhal adjacente, as células neoplásicas foram observadas distribuídas de maneira difusa nos espaços leptomeníngeos e espaços perivasculares do neurópilo medular.

## **DISCUSSÃO**

O linfoma é a neoplasia mais comum em felinos e, dentre todas as espécies de animais domésticos, é a que possui maior incidência (JARRETT; CRIGHTON; DALTON, 1966, HARDY, 1981, SCHMIDT *et al.*, 2010). Além da sua forma espontânea, o linfoma em felinos pode ocorrer por ação oncogênica viral. O FeLV é um dos principais fatores envolvidos na formação desses tumores. Trabalhos realizados até os anos de 1990, o FeLV estava relacionado a mais de 80% das leucemias e linfomas em gatos (COTTER; HARDY; ESSEX, 1975; FRANCIS; ESSEX; HARDY, 1977, FRANCIS *et al.*, 1979, HARDY, 1981; REINACHER, 1989; SHELTON *et al.*, 1990). Em gatos infectados por FeLV, aqui observado em 87,5% dos casos, a propensão para o desenvolvimento de linfomas aumenta em até 62 vezes, enquanto que a associação conjunta com o FIV eleva o risco em até 80 vezes (SHELTON *et al.*, 1990, HARTMANN, 2012). A exceção de um felino positivo somente para o FIV, nos casos restantes em que esse agente viral estava presente, havia infecção pelo FeLV. Apesar do papel indireto do FIV na formação dos linfomas felinos, sabe-se que esse vírus, embora menos frequentemente, pode exercer papel oncogênico direto (DIEHL; HOOVER, 1992, BEATTY *et al.*, 1998, BEATTY *et*

*al.*, 2002). A prevalência de linfoma associado à FeLV vem diminuindo ao longo dos anos em várias partes do mundo, provavelmente devido ao implemento de programas de eliminação e vacinação (LOUWERENS *et al.*, 2005, HARTMANN, 2012, MEICHNER *et al.*, 2012). Entretanto, o linfoma de SNC relacionado ao FeLV, foi predominante nos felinos analisados, com proporção similar a trabalhos antigos, nos quais a frequência de gatos infectados era maior (HARDY, 1981, WHELEER, 1989, LANE *et al.*, 1994). Dessa forma, a alta relação entre FeLV e linfoma de SN observada possivelmente esteja ligada a uma frequência maior de gatos infectados no Brasil.

A frequência maior de felinos jovens no presente estudo é um fator epidemiológico associado aos linfomas relacionados à FeLV, nos quais os felinos frequentemente têm menos de três anos (HARDY, 1981, LANE *et al.*, 1994). Nos dois únicos felinos negativos para o FeLV no presente estudo, as idades eram maiores que oito anos (HARDY, 1981, LOUWERENS *et al.*, 2005). Apesar da quantidade discretamente maior de fêmeas, o gênero não é considerado um fator predisponente para o desenvolvimento do linfoma a despeito da infecção viral (HARDY, 1981). Em contrapartida, a incidência de linfomas pode ser particularmente mais alta ou baixa em determinadas raças, indicando uma provável predisposição genética (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998, LYONS, 2010). Apesar disso, o presente trabalho não pode avaliar fatores ligados a raça, devido à alta prevalências de felinos sem raça definida, a qual representa a casuística dos felinos recebidos para exame de necropsia no local onde foi realizado o estudo.

O linfoma é a principal neoplasia do SNC de felinos, de ocorrência maior na medula espinhal do que no encéfalo (WHEELER, 1989). Predominantemente, esses linfomas são secundários e tendem a ocorrer conjuntamente com outros órgãos (LANE *et al.* 1994, TOMEK *et al.*, 2006, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008). O linfoma primário de SNC (LPSNC) é um neoplasma originado e confinado a esse local, que raramente ocorre em gatos (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Apesar dos três casos LPSNC também serem FeLV-positivos, essa relação viral não é considerada um fator relevante na frequência desse tipo de linfoma (VALLI *et al.*, 2016). Em humanos, o LPSCN é mais frequente em pacientes imunodeprimidos infectados pelo HIV (RUBENSTEIN; FERRERI; PITTALUGA, 2008). Tanto em humanos como em gatos, esses linfomas são frequentemente identificados como de células B (FERRACINI *et al.*, 1993, VERNAU *et al.*, 2001, HALDORSEN *et al.*, 2008, NAKAMOTO *et al.*, 2009), e mais raramente de células T (FONDEVILA; VILAFRANCA; PUMAROLA, 1998, MORITA *et al.*, 2009).



Dentre as neoplasias de medula espinhal em felinos, o linfoma é o neoplasma mais frequente (LANE *et al.*, 1994, BRADSHAW; PEARSON; GRUFFYDD-JONES, 2004, MARIONI-HENRY *et al.*, 2004, MARIONI-HENRY *et al.*, 2008) e a sua apresentação extradural é a mais comum principalmente em felinos jovens FeLV positivos (ZAKI; HURVITZ, 1976; NORTHINGTON; JULIANA, 1978; SPODNICK *et al.*, 1992; LANE *et al.*, 1994). Assim como nos felinos estudados os segmentos lombossacrais geralmente são os mais afetados (MARIONI-HENRY *et al.*, 2004). Semelhante ao descrito por Spodnick *et al.* (1992) e Lane *et al.* (1994) frequentemente as massas epidurais eram focais. O envolvimento do osso vertebral e musculatura espinhal também é relatado em linfomas extradurais (SPODNICK *et al.*, 1992, LANE *et al.*, 1994). Entretanto, apesar de provavelmente ocorrerem pela expansão direta do linfoma no canal vertebral, esses locais também podem ser afetados por infiltrações advindas da região paravertebral, ou via hematogena, através do plexo venoso (HARRINGTON, 1986, MACCAURO *et al.*, 2011). A mielomalacia hemorrágica, observada em três casos, é uma alteração secundária pouco descrita em felinos com linfoma extradural (LAISSE *et al.*, 2017). Essa lesão é decorrente da desordem neurovascular secundária a injúria medular compressiva (DE LAHUNTA; GLASS, 2009).

O linfoma é o segundo neoplasma intracranial mais frequente em felinos (TROXEL *et al.* 2003, BRADSHAW; PEARSON; GRUFFYDD-JONES, 2004). A linfomatose leptomenigeal, ou meningite linfomatosa, foi a distribuição mais frequentemente observada. Os linfomas podem se estabelecer em leptomeninges por infiltração direta de tumores primários e metastáticos via parênquima, ou por via hematogena, através de vasos na aracnoide (GROSSMAN; KRABAK, 1999). Esse padrão, além de ser descrito em humanos, também está bastante associado ao HIV (LEVITT *et al.*, 1980, MAMIDI; A DESIMONE; POMERANTZ, 2002). Na linfomatose leptomenigeal, assim como o observado, as alterações macroscópicas são dificilmente perceptíveis e, quando visíveis, podem apresentar um leve espessamento irregular em leptomeninges (MANDARA; MOTTA; CALÒ, 2016). A coroidite linfomatosa foi menos frequente, e um caso foi observada associada a linfomatose leptomenigeal. Ao contrário do observado por Zaki e Hurvitz (1976), nos felinos afetados não havia formação de massa. Em um estudo em caninos, tanto na linfomatose leptomenigeal quanto na coroidite linfomatosa, o principal tipo de linfoma nesses locais foi o LDGCB, similar ao observado no presente estudo. O linfoma intradural no encéfalo é pouco descrito em medicina veterinária. A sua apresentação no SNC localizada em paquimeninge é

extremamente rara, mas descrita em humanos (MATMATI *et al.*, 2010). Esse caso foi o único com alterações macroscópicas devido às áreas de mineralizações na dura-máter. Em felinos jovens, essa alteração associada ao linfoma é raramente descrita (MANDARA, 2003). Entretanto, calcificações de paquimeninges do encéfalo já foram relatados em humanos relacionado ao linfoma primário de SNC e também relacionados ao tratamento quimioterápico (JENKINS; COLQUHOUN, 1998, APTER *et al.*, 2002). Todavia, no presente caso, o felino não tinha histórico de tratamento quimioterápico. A calcificação de meninges também é relatada em gatos infectados por FIV e essa associação também poderia ser uma causa provável para essa alteração (HURTREL *et al.*, 1992). Em metástases de carcinoma pulmonar no SNC de humanos, aspecto semelhante tem sido observado (INOMATA *et al.*, 2012). Apesar do mecanismo nesses casos não ser totalmente conhecido sugere-se que possam ocorrer devido: tecido cicatricial calcificado; calcificação distrófica em áreas de necrose tumoral; calcificação metastática devido à alta produção de fosfato de cálcio; deposição de cálcio como resultado da função secretória do próprio carcinoma. (MAHONEY *et al.*, 1990).

A neurolinfomatose primária, apresentada por um felino, é o termo referido para infiltração difusa de linfócitos neoplásicos ao longo do sistema nervoso periférico (SNP) (GRISARIU *et al.*, 2010). Os achados macroscópicos dessa forma muitas vezes divergem da apresentação comum dos linfomas observados em outros órgãos (LINZMANN *et al.*, 2009). Apesar do linfoma ser o tumor mais comum a invadir de maneira secundária o SNP de felinos, a neurolinfomatose é uma condição rara tanto em felinos, como em outros animais e humanos (ALLEN; AMIS, 1975, HANKENSON; BIRKEBAK; MAGGIO-PRICE, 1998, KUNTZER *et al.*, 2000, MELLANBY *et al.*, 2003, HIGGINS *et al.*, 2008, CHOI *et al.*, 2013, SHREE *et al.*, 2016). A infiltração neoplásica em leptomeninges (linfomatose leptomeningeal) e espaço perivascular do parênquima medular, assim como o observado, é uma decorrência relativamente comum da neurolinfomatose de nervos espinhais (LANE *et al.*, 1994, SCHAFFER *et al.*, 2011, MANDRIOLI *et al.*, 2012, RUPP *et al.*, 2014, SAKURAI *et al.*, 2016). Entretanto essa apresentação pode ser confundida com outras condições neurológicas, como vasculites e mononeurites (MANDRIOLI *et al.*, 2012). Em humanos e animais, os linfomas de sistema nervoso periférico são frequentemente identificados como de linfócitos B (HIGGINS *et al.*, 2008).

LDGCB é o principal tipo observado em caninos e humanos (FRIEDBERG; FISHER, 2008, VEZZALI *et al.*, 2010). Os linfomas FeLV associados são relacionados principalmente a linfomas de células T, especialmente o do tipo linfoblástico, localizados

principalmente em mediastino (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2016). Em um estudo com linfoma em felinos FeLV positivos, cerca de 30% eram de linfócitos B (JACKSON, *et al.*, 1996). Os linfomas em gatos infectados por FIV, e também quando relacionado a coinfeção por FeLV, são frequentemente de linhagem B e de células maduras, assim como o observado nos felinos analisados (ENGLISH *et al.*, 1994, CALLANAN *et al.*, 1992, TERRY *et al.*, 1995, CALLANAN *et al.*, 1996, HARTMANN, 2012, BEATTY *et al.*, 2012). Além disso o linfoma de células B já foi relacionado ao DNA pró-viral do FIV mesmo na ausência da detecção de antígenos, o que talvez possa justificar a elevada frequência desse tipo de neoplasma no presente estudo, apesar da frequência de 35% de FIV-positivos (BEATTY *et al.*, 1998). Assim como o observado em cães, a maior parte dos linfomas observados no SNC dos felinos analisados eram de células B, classificados predominantemente como LDGCB's (SISÓ *et al.*, 2016).

## CONCLUSÃO

O envolvimento do SN foi observado em 12,8% dos felinos com linfoma e afetou principalmente felinos jovens com idade mediana de 24 meses.

O linfoma em medula espinhal foi mais frequente que o intracranial, e em sua maior parte o SN foi envolvido de maneira secundária. Os casos primários estavam localizados na medula espinhal.

Na medula espinhal a principal localização foi a extradural, a qual era frequentemente focal, principalmente em região lombar e sacral. A mielomalácia hemorrágica pode ocorrer em felinos com linfoma extradural.

A linfomatose leptomeningeal é a principal apresentação de distribuição intracranial de linfoma em felinos.

De acordo com os critérios de classificação pela WHO o linfoma difuso de grandes células B foi o tipo mais observado no sistema nervoso.

## REFERÊNCIAS

- ALLEN, J. G.; AMIS, T. Lymphosarcoma involving cranial nerves in a cat. **Australian Veterinary Journal**, [S.l.], v. 51, n. 3, p. 155-158, 1975. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1975.tb09443.x>.
- APTER, S. *et al.* Calcification in lymphoma occurring before therapy. **American Journal of Roentgenology**, [S.l.], v. 178, n. 4, p. 935-938, 2002. <http://dx.doi.org/10.2214/ajr.178.4.1780935>.
- BEATTY, J. A. *et al.* Immunophenotypical characterization of a feline immunodeficiency virus (FIV)-associated lymphoma: A direct role for FIV in B-lymphocyte transformation?. **Journal of Virology**, [S.l.], v. 72, p. 767-771, 1998.
- BEATTY, J. A. *et al.* Feline immunodeficiency virus integration in B-cell lymphoma identifies a candidate tumor suppressor gene on human chromosome 15q15. **Cancer Research**, [S.l.], v. 62, p. 7175-7180, 2002.
- BRADSHAW, J. M.; PEARSON, G. R.; GRUFFYDD-JONES, T. J. A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 131, n. 2-3, p. 112-120, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.01.010>.
- CALLANAN, J. J. *et al.* Clinical and pathological findings in feline immunodeficiency virus experimental infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v. 35, n. 1-2, p.3-13, 1992. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427\(92\)90116-8](http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427(92)90116-8)
- CALLANAN, J. J. *et al.* Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 264-272, 1996. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589603300302>.
- CHOI, Y. J. *et al.* Neurolymphomatosis of brachial plexus in patients with non-hodgkin's lymphoma. **Case Reports in Oncological Medicine**, [S.l.], v. 2013, p. 1-5, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/492329>.
- COTTER, S. M.; HARDY, W. D.; ESSEX, M. Association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 166, n.5, p. 449-454, 1975.
- DE LAHUNTA, A.; GLASS, E. Large Animal Spinal Cord Disease. **Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology**. 3. ed. Saint Louis, 2009, cap. 11 p. 285-317.
- DIEHL, L. J.; HOOVER, E. A. Early and progressive helper t-cell dysfunction in feline leukemia virus-induced immunodeficiency. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [S.l.], v. 5, p. 1188-1194, 1992.
- ENGLISH, R. V. *et al.* Development of clinical disease in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. **The Journal of Infectious Diseases**, [S.l.], v. 130, n. 3, p. 543-552, 1994.

- FERRACINI, R. *et al.* Non-Hodgkin lymphomas of the central nervous system. **Pathology - Research and Practice**, [S.l.], v. 189, n. 3, p. 249-260, 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/s0344-0338\(11\)80507-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0344-0338(11)80507-8).
- FONDEVILA, D.; VILAFRANCA, M.; PUMAROLA, M. Primary Central Nervous System T-cell Lymphoma in a Cat. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 35, n. 6, p.550-553, 1998. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589803500613>.
- FRANCIS, D. P.; ESSEX, M.; HARDY, W. D. Excretion of feline leukaemia virus by naturally infected pet cats. **Nature**, [S.l.], v. 269, n. 5625, p. 252-254, 1977. <http://dx.doi.org/10.1038/269252a0>.
- FRANCIS, D. P. *et al.* Comparison of virus-positive and virus-negative cases of feline leukemia and lymphoma. **Cancer Research**, [S.l.], v. 39, n. 10, p. 3866-3870, 1979.
- FRIEDBERG, J. W.; FISHER, R. I. Diffuse large B-cell lymphoma. **Hematology/oncology Clinics of North America**, [S.l.], v. 22, n. 5, p. 941-952, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2008.07.002>.
- GABOR, L. J; MALIK, R.; CANFIELD, P. J. Clinical and anatomical features of lymphosarcoma in 118 cats. **Australian Veterinary Journal**, [S.l.], v. 76, n. 11, p. 725-732, 1998. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1998.tb12300.x>.
- GRISARIU, S. *et al.* Neurolymphomatosis: an international primary CNS lymphoma collaborative group report. **Blood**, [S.l.], v. 115, n. 24, p. 5005-5011, 2010. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-12-258210>.
- GROSSMAN, S. A.; KRABAK, M. J. Leptomeningeal carcinomatosis. **Cancer Treatment Reviews**, [S.l.], v. 25, n. 2, p. 103-119, 1999. <http://dx.doi.org/10.1053/ctrv.1999.0119>.
- HALDORSEN, I. S. *et al.* AIDS-related primary central nervous system lymphoma: a Norwegian national survey 1989–2003. **Bmc Cancer**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 1-8, 6. 2008. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-8-225>.
- HANKENSON, F. C.; BIRKEBAK, T. A.; MAGGIO-PRICE, L. Pelvic limb paresis in a safari cat. **American Association for Laboratory Animal Science**, [S.l.], v. 48, n. 4, p. 325-329, 1998.
- HARDY, W. D. Hematopoietic tumors of cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, New York, v. 17, n. 6, p. 921-940, 1981.
- HARRINGTON, K. D. Metastatic disease of the spine. **Journal of Bone and Joint Surgery**, [S.l.], v. 68, n. 7, p. 1110–1115, 1986.
- HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. **Viruses**, [s.l.], v. 4, n. 12, p. 2684-2710, 2012. <http://dx.doi.org/10.3390/v4112684>.
- HIGGINS, M. A. *et al.* B-cell lymphoma in the peripheral nerves of a cat. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 45, n. 1, p.54-57, 2008. <http://dx.doi.org/10.1354/vp.45-1-54>.

HURTREL, M. *et al.* Comparison of early and late feline immunodeficiency virus encephalopathies. **Aids**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 399-406, 1992. <http://dx.doi.org/10.1097/00002030-199204000-00007>.

INOMATA, M. *et al.* Miliary brain metastasis presenting with calcification in a patient with lung cancer: a case report. **Journal of Medical Case Reports**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 2-5, 2012. <http://dx.doi.org/10.1186/1752-1947-6-279>.

JACKSON, M. L. *et al.* Immunohistochemical identification of B and T lymphocytes in formalin-fixed, paraffin-embedded feline lymphosarcomas: relation to feline leukemia virus status, tumor site, and patient age. **Canadian Journal of Veterinary Research**, [S.l.], v. 60, n.3, p. 199-204, 1996.

JARRETT, W.; CRIGHTON, G DALTON, R. Leukaemia and lymphosarcoma in animals and man I.- Lymphosarcoma or leukaemia in the domestic animals. **Veterinary Record**, [S.l.], v. 79, p. 693-699, 1966.

JENKINS, C. N. J.; COLQUHOUN, I. R. Characterization of primary intracranial lymphoma by computed tomography: an analysis of 36 cases and a review of the literature with particular reference to calcification haemorrhage and cyst formation. **Clinical Radiology**, [S.l.], v. 53, n. 6, p. 428-434, 1998. [http://dx.doi.org/10.1016/s0009-9260\(98\)80271-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0009-9260(98)80271-7).

KUNTZER, T. *et al.* Clinicopathological and molecular biological studies in a patient with neurolymphomatosis. **Muscle Nerve**, [S.l.], n. 23, v. 10, p. 1604-1609, 2000.

LAISSE, C. J. M. *et al.* Haemorrhagic myelomalacia in a cat with extradural T-cell lymphoma. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 38, n. 1, p. 327-334, 2017. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n1p327>.

LANE, S. B. *et al.* Feline Spinal Lymphosarcoma: A Retrospective Evaluation of 23 Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 8, n. 2, p. 99-104, 1994. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03205.x>.

LEVITT, L. J. *et al.* CNS involvement in the non-hodgkin's lymphomas. **Cancer**, [S.l.], v. 45, n. 3, p.545-552, 1980. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(19800201\)45:33.0.co;2-6](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(19800201)45:33.0.co;2-6).

LINZMANN, H. *et al.* A neurotropic lymphoma in the brachial plexus of a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [S.l.], v. 11, n. 6, p. 522-524, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2008.09.007>.

LOUWERENS, M. *et al.* Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 19, n. 3, p. 329-335, 2005. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02703.x>.

LYONS, L. A. Feline genetics: clinical applications and genetic testing. **Topics in Companion Animal Medicine**, [S.l.], v. 25, n. 4, p. 203-212, 2010. <http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2010.09.002>.

MACCAURO, G. *et al.* Physiopathology of spine metastasis. **International Journal of Surgical Oncology**, [S.l.], v. 2011, p.1-8, 2011. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/107969>.

- MANDARA, M. T. Meningial blood vessel calcification in the brain of the cat. **Acta Neuropathologica**, [S.l.], v. 105, n. 3, p. 240-244, 2003.
- MANDARA, M. T.; MOTTA, L.; CALÒ, P. Distribution of feline lymphoma in the central and peripheral nervous systems. **The Veterinary Journal**, [S.l.], v. 216, p. 109-116, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.07.013>.
- MANDRIOLI, L. *et al.*. A case of feline neurolymphomatosis: pathological and molecular investigations. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.l.], v. 24, n. 6, p. 1083-1086, 2012. <http://dx.doi.org/10.1177/1040638712460674>.
- MAHONEY, M. C. *et al.* CT demonstration of calcification in carcinoma of the lung. **American Journal of Roentgenology**, [S.l.], v. 154, n. 2, p.255-258, 1990. American Roentgen Ray Society. <http://dx.doi.org/10.2214/ajr.154.2.2153329>.
- MAMIDI, A.; A DESIMONE, J.; POMERANTZ, R. J. Central nervous system infections in individuals with HIV-1 infection. **Journal of Neurovirology**, [S.l.], v. 8, n. 3, p. 158-167, 2002. <http://dx.doi.org/10.1080/13550280290049723>.
- MARIONI-HENRY, K. *et al.* Prevalence of Diseases of the Spinal Cord of Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 18, n. 6, p. 851-858, 2004. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02632.x>.
- MARIONI-HENRY, K. *et al.* Tumors affecting the spinal cord of cats: 85 cases (1980–2005). **Journal of The American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 232, n. 2, p. 237-243, 2008. <http://dx.doi.org/10.2460/javma.232.2.237>.
- MATMATI, K. S. *et al.* Dural MALT lymphoma with disseminated disease. **Hematology Reports**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 48-53, 2010. <http://dx.doi.org/10.4081/hr.2010.e10>.
- MEICHNER, K. *et al.* Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. **Veterinary Record**, [S.l.], v. 171, n. 14, p. 348-348, 2012. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.100813>.
- MELLANBY, R. J. *et al.* Magnetic resonance imaging in the diagnosis of lymphoma involving the brachial plexus in a cat. **Veterinary Radiology**, [S.l.], v. 44, n. 5, p.522-525, 2003. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1740-8261.2003.tb00500.x>.
- MORITA, T. *et al.* Periventricular spread of primary central nervous system T-cell lymphoma in a cat. **Journal Of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 140, n. 1, p. 54-58, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.09.003>.
- NAKAMOTO, Y. *et al.* Primary Intra-Axial B-Cell Lymphoma in a Cat. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 71, n. 2, p. 207-210, 2009. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.71.207>.
- NORTHINGTON, J. W.; JULIANA M. M. Extradural lymphosarcoma in six cats. **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v. 19, n. 7, p. 409- 416, 1978.
- REINACHER, M. Diseases associated with spontaneous feline leukemia virus (FeLV) infection in cats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v. 21, n. 1, p. 85-95, 1989. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427\(89\)90132-](http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427(89)90132-)



- RUBENSTEIN, J.; FERRERI, A. J. M.; PITTALUGA, S. Primary lymphoma of the central nervous system: epidemiology, pathology and current approaches to diagnosis, prognosis and treatment. **Leukemia & Lymphoma**, [S.l.], v. 49, n. 1, p. 43-51, 2008. <http://dx.doi.org/10.1080/10428190802311441>.
- RUPP, A. *et al.* Sciatic T-cell neurolymphomatosis in a dog. **Veterinary Record Case Reports**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 1-6, 2014. <http://dx.doi.org/10.1136/vetreccr-2014-000050>.
- SATO, H. *et al.* Prognostic analyses on anatomical and morphological classification of feline lymphoma. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 76, n. 6, p. 807-811, 2014. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.13-0260>.
- SAKURAI, M. *et al.* Neurolymphomatosis in a cat. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 78, n. 6, p. 1063-1066, 2016. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.15-0553>.
- SCHAFFER, P. A. *et al.* Neurolymphomatosis in a dog with B-cell lymphoma. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 49, n. 5, p. 771-774, 2011. <http://dx.doi.org/10.1177/0300985811419531>.
- SHELTON, G. H. *et al.* Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections and their relationships to lymphoid malignancies in cats: A retrospective study (1968–1988). **Journal of Acquired Immunodeficiency Syndromes**, [S.l.], v. 3, n. 6, p. 623–630, 1990.
- SCHMIDT, J. M. *et al.* Feline paediatric oncology: retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v. 51, n. 6, p. 306-311, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00915.x>.
- SHREE, R. *et al.* The diagnostic dilemma of neurolymphomatosis. **Journal of Clinical Neurology**, [S.l.], v. 12, n. 3, p. 274-281, 2016. <http://dx.doi.org/10.3988/jcn.2016.12.3.274>.
- SISÓ, S. *et al.* Canine nervous system lymphoma subtypes display characteristic neuroanatomical patterns. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 54, n. 1, p. 53-60, 2016. <http://dx.doi.org/10.1177/0300985816658101>.
- SPODNICK, G. J. *et al.* Spinal lymphoma in cats: 21 cases (1976–1989). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], n. 200, v. 3, p. 373–376, 1992.
- TERRY, A. *et al.* Molecular analysis of tumours from feline immunodeficiency virus (FIV)-infected cats: An indirect role for FIV?. **International Journal of Cancer**, [S.l.], v. 61, n. 2, p. 227-232, 1995. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.2910610215>.
- TOMEK, A. *et al.* Intracranial neoplasia in 61 cats: localization, tumour types and seizure patterns. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, [S.l.], v. 8, n. 4, p. 243-253, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2006.01.005>.
- TROXEL, M. T. *et al.* Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985-2001). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 17, n. 6, p. 850-859, 2003. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02525.x>.



VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the hemolymphatic system. In: MEUTEN, D. J. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. 5. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2016, cap. 7. p. 203-321.

VALLI, V. E, *et al.* The hematopoietic system. In: MAXIE M. G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2016, v.3, cap. 2, p. 107-324.

VERNAU, K. M. *et al.* Primary canine and feline nervous system tumors: intraoperative diagnosis using the smear technique. **Veterinary Pathology**, [*S.l.*], v. 38, n. 1, p. 47-57, 2001. <http://dx.doi.org/10.1354/vp.38-1-47>.

VEZZALI, E. *et al.* Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Veterinary and Comparative Oncology**, [*S.l.*], v. 8, n. 1, p. 38-49, 2010.

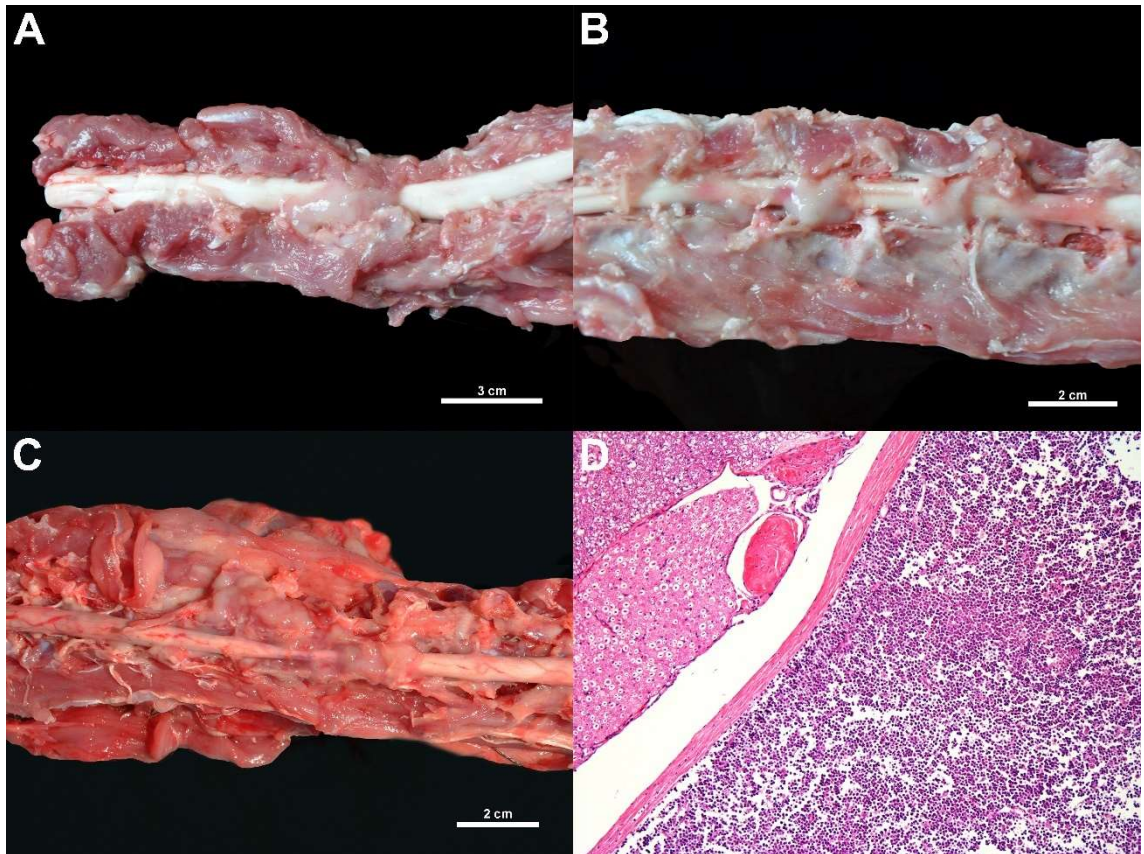
WHEELER, S. J. Spinal tumours in cats. **Veterinary Annual**, [*S.l.*], v. 29, p. 270–277, 1989.

ZAKI, F.A.; HURVITZ, A.I. Spontaneous neoplasms of the central nervous system of the cat. **Journal of Small Animal Practice**, [*S.l.*], v. 17, n. 12, p. 773-782, 1976.

**Tabela 1.** Anticorpos e protocolos imuno-histoquímicos.

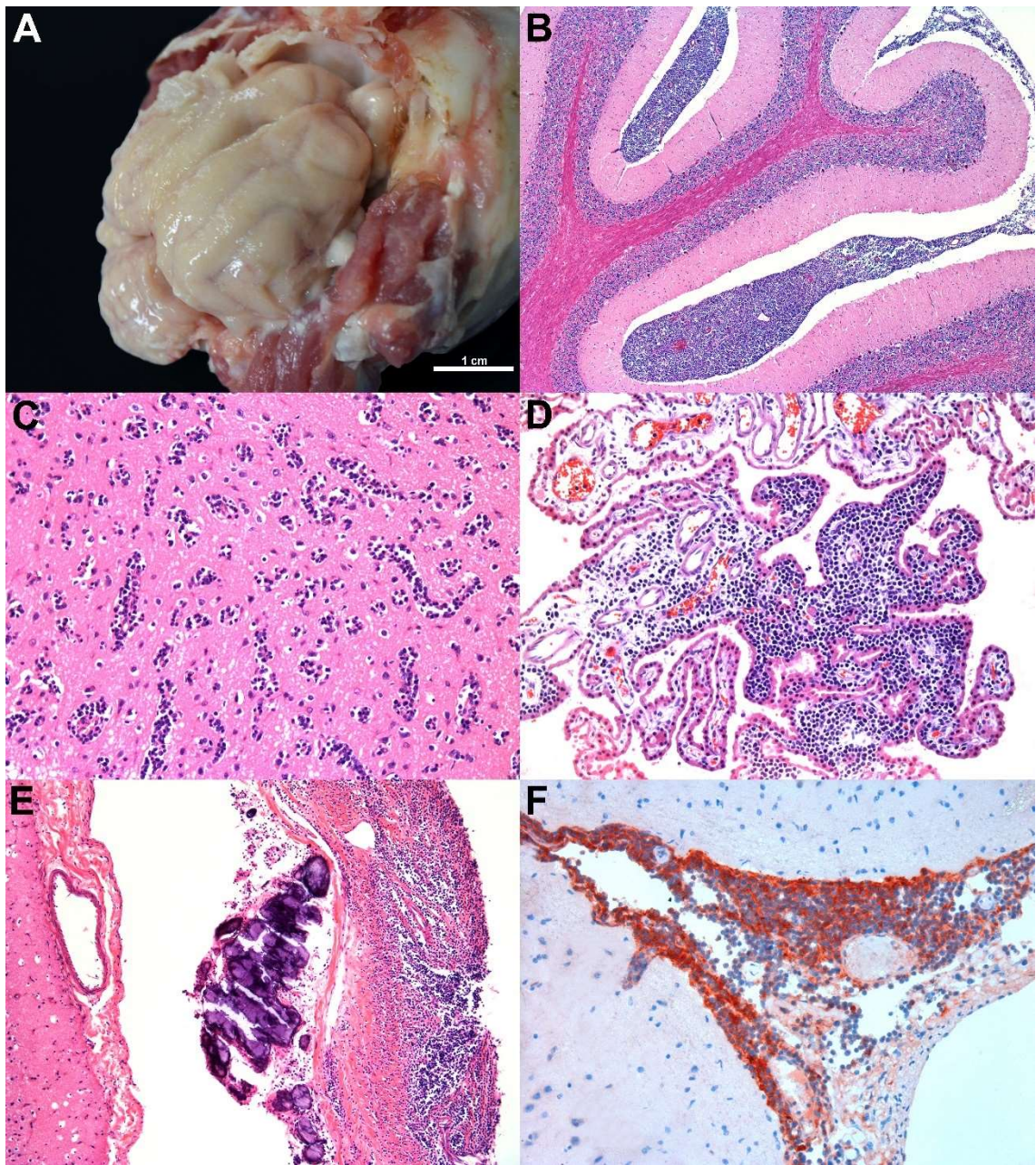
<b>Anticorpo</b>	<b>Recuperação antigênica</b>	<b>Diluição</b>	<b>Método de detecção</b>	<b>Cromógeno</b>
Monoclonal Camundongo anti-FeLV gp 70 <sup>a</sup>	40 min/100°C, Tampão Tris EDTA pH 9.0	1:500	MACH 4	AEC
Monoclonal Camundongo anti-FIV p24gag <sup>a</sup>	40 min/100°C, Tampão Citrato pH 6.0	1:200	MACH 4	AEC
Monoclonal Camundongo anti-CD79 $\alpha$ cy humano <sup>b</sup>	20 min/100°C, Tampão Tris EDTA pH 9.0	1:100	MACH 4	DAB
Policlonal Coelho anti-CD3 humano <sup>b</sup>	15 min/TA Protease XIV	Pronto para uso	MACH 4	AEC

<sup>a</sup>: Bio-rad<sup>®</sup>; <sup>b</sup>: Dako<sup>®</sup>; MACH 4 = Universal HRP-Polímero (Biocare<sup>®</sup>); AEC = 3-amino-9-etilcarbazol (Dako); DAB = 3,3'Diaminobenzeno (Dako<sup>®</sup>), TA: temperatura ambiente.



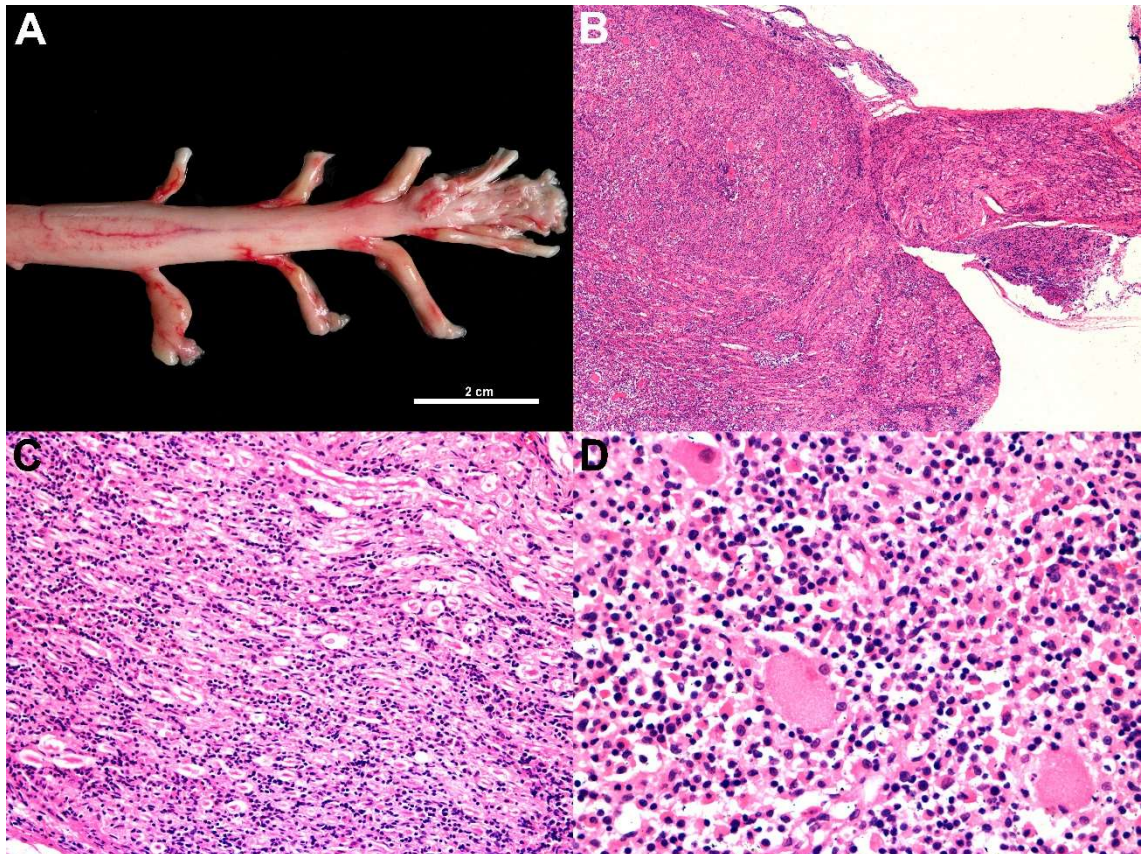
**Figura 1. Linfoma felino em medula espinhal.** A) Distribuição focal do linfoma medular em espaço epidural da região cervical. B) Distribuição multifocal do linfoma em espaço epidural em região lombar. C) Linfoma medular estendendo-se para osso e musculatura adjacente. Em segmento cranial ao neoplasma observa-se mielomalácia hemorrágica D) Infiltrado difuso de linfócitos neoplásicos periférico a dura-máter (distribuição extradural). HE, 100X.





**Figura 2. Linfoma felino em encéfalo.** A) Encéfalo apresentando dura-máter espessada com aspecto rugoso. B) Linfomatose leptomeningeal caracterizada por infiltrado de linfócitos neoplásicos em leptomeninges. HE, 40X. C) Infiltrado de linfócitos neoplásicos em espaço perivascular de neurópilo encefálico, associado a linfomatose leptomeningeal. HE, 200X. D) Coroidite linfomatosa caracterizada por infiltrado difuso de linfócitos neoplásicos em plexo coroide. HE, 200X. E) Linfoma intradural caracterizado por infiltrado de linfócitos neoplásicos em paquimeninge encefálica associado a áreas multifocais de mineralização. HE, 100X. F) Linfócitos neoplásicos em leptomeninges com marcação citoplasmática na IHQ para FeLV. Cromógeno AEC, 200X.





**Figura 3. Neurolinomatose.** A) Espessamento acentuado bilateral de nervos espinhais (região sacral), de consistência macia e coloração amarelada. B) Espessamento acentuado de nervo e gânglio paravertebral por infiltrado linfocitário neoplásico. HE, 40X. C) Infiltrado neoplásico de linfócitos em nervo com degeneração walleriana multifocal e formação de esferoides axonais. HE, 200X. D) Infiltrado neoplásico linfocitário em gânglio paravertebral. HE, 400X.

#### **4 CONCLUSÃO**

O envolvimento da medula espinhal foi observado na maioria dos bovinos com linfoma, e afetou vacas de aptidão leiteira, adultas e com média de idade de seis anos. A paresia de membros pélvicos foi a alteração mais frequente. Em todos os bovinos o envolvimento do linfoma na medula espinhal ocorreu no espaço epidural associado ao tecido adiposo (extradural). Frequentemente a distribuição neoplásica foi multifocal e as regiões mais acometidas foram as regiões lombar e sacral. A mielomalácia hemorrágica pode ocorrer em bovinos com linfoma extradural medular.

O envolvimento do sistema nervoso foi observado em 12,8% dos felinos com linfoma e afetou, principalmente, felinos jovens com idade mediana de 24 meses. O linfoma em medula espinhal foi mais frequente que o intracranial, e o sistema nervoso foi envolvido de maneira secundária. Os casos primários estavam localizados somente na medula espinhal. Na medula espinhal, a principal localização foi a extradural em região lombar e sacral. A mielomalácia hemorrágica pode ocorrer em felinos com linfoma extradural. A linfomatose leptomeningeal é a principal apresentação de distribuição intracranial de linfoma em felinos.

De acordo com os critérios de classificação pela WHO tanto no SNC de bovinos quanto no SN de felinos o linfoma difuso de grandes células B foi o tipo mais comum.

## REFERÊNCIAS

- AIDA, Y. *et al.* Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1-11, 2013.
- BRADSHAW, J. M.; PEARSON, G. R.; GRUFFYDD-JONES, T. J. A. Retrospective Study of 286 Cases of Neurological Disorders of the Cat. **Journal of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 131, n. 2-3, p. 112-120, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.01.010>.
- BURTON, A. J. *et al.* Signalment and clinical complaints initiating hospital admission, methods of diagnosis, and pathological findings associated with bovine lymphosarcoma (112 cases). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 24, n. 4, p. 960-964, 2010.
- FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema Hematopoiético. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. (Orgs.). **Patologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2010, cap. 6, p. 337-422.
- GREENLEE, P. G. *et al.* Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinically study. **Cancer**, [S.l.], v. 66, p. 480-490, 1990
- HARDY, W. D. Hematopoietic tumors of cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, New York, v. 17, n. 6, p. 921-940, 1981.
- HARRIS, N. L. *et al.* A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group [see comments]. **Blood**, [S.l.], v. 84, n. 5, p. 1361-1392, 1994.
- HARRIS, N. L. *et al.* World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting—Airlie House, Virginia, 1997. **Journal of Clinical Oncology**, [S.l.], v. 17, n. 12, p. 3835-3849, 1999. <http://dx.doi.org/10.1200/jco.1999.17.12.3835>.
- HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Viruses**, [S.l.], v. 4, n. 12, p. 2684-2710, 2012. <http://dx.doi.org/10.3390/v4112684>.
- JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the Hemolymphatics System. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4 ed. Iowa. Blackwell Publishing. 2002, cap. 3, p. 128-161.
- JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the Hemolymphatics System. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4 ed. Iowa. Blackwell Publishing. 2002, cap. 3, p. 128-161.
- LANE, S. B. *et al.* Feline spinal lymphosarcoma: a retrospective evaluation of 23 cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 8, n. 2, p. 99-104, 1994. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03205.x>
- LUKES, R. J. Functional classification of malignant lymphoma of Lukes and Collins. **Lymphoid Neoplasias I**, [S.l.], p. 19-30, 1978. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-81246-0\\_3](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-81246-0_3).

MARIONI-HENRY, K. *et al.* Tumors affecting the spinal cord of cats: 85 cases (1980–2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 232, n. 2, p. 237-243, 2008. <http://dx.doi.org/10.2460/javma.232.2.237>.

MARSHAK R. R, *et al.* Studies on bovine lymphosarcoma. I. Clinical aspects, pathological alterations, and herd studies. **Cancer Research**, [S.l.], v. 22, n.2, p. 202-217. 1962.

PANZIERA, W. *et al.* Classificação de 86 casos de linfoma em bovinos de acordo com a Working Formulation (WF) of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage e a Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.l.], v. 36, n. 4, p. 263-271, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016000400003>.

PARODI, A. L. Classification of malignant lymphoma in domestic animals: history and conceptual evolution. **European Journal of Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 43-50, 2001.

RAPPAPORT, H. Tumors of the hematopoietic system. In: **Atlas of tumor pathology**. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, p. 1- 442, 1966.

REBHUN W. C. *et al.* Compressive neoplasms affecting the bovine spinal cord. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, [S.l.], v. 6, p. 396-400, 1984.

SCHMIDT, J. M. *et al.* Feline pediatric oncology: retrospective assessment of 233 tumors from cats up to one year (1993 to 2008). **Journal of Small Animal Practice**, [S.l.], v. 51, n. 6, p. 306-311, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00915.x>.

SHERMAN, D. M. Localized diseases of the bovine brain and spinal cord. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 179-191, 1987. [http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)31189-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720(15)31189-0).

SWEENEY, R. W. *et al.* Intracranial lymphosarcoma in a Holstein bull. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 189, n. 5, p. 555-556, 1986.

SWERDLOW, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. **Blood**, [S.l.], v. 127, n. 20, p. 2375-2390, 2016. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>.

TESKE, E. *et al.* Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. J. **The American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 205, n. 12, p. 1722-1728, 1994.

TESKE, E.; VAN HEERDE, P. Diagnostic value and reproducibility of fine-needle aspiration cytology in canine malignant lymphoma. **Veterinary Quarterly**, [S.l.], v. 18, n. 3, p. 112-115, set. 1996. <http://dx.doi.org/10.1080/01652176.1996.9694630>.

THURMOND, M. C. Linfossarcoma bovino. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, 2006, cap. 35, p. 1067-1071.



TOMEK, A. *et al.* Intracranial neoplasia in 61 cats: localization, tumor types and seizure patterns. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, [S.l.], v. 8, n. 4, p. 243-253, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2006.01.005>.

TROXEL, M. T. *et al.* Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985-2001). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.l.], v. 17, n. 6, p. 850-859, 2003. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02525.x>.

VALLI V. E. *et al.* Histocytology of lymphoid tumors in the dog, cat and cow. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v.18, p. 494-512, 1981.

VALLI, V. E. *et al.* The hematopoietic system. In: MAXIE M. G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2016, v.3, cap. 2, p. 107-324.

VALLI, V. E. *et al.* The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute Working Formulation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.l.], v. 12, n. 4, p. 295-306, 2000. <http://dx.doi.org/10.1177/104063870001200401>.

VALLI, V. E. O. *et al.* Histological classification of hematopoietic tumors of domestic animals. 2. ed. **WHO/AFIP**, Washington, 2002.

VERNAU, W. *et al.* Classification of 1,198 cases of bovine lymphoma using the national Cancer Institute Working Formulation for Human Non-Hodgkin's Lymphomas. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 29, n. 3, p. 183-195, 1992. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589202900301>.

VERNAU, W. *et al.* The Immunophenotypic characterization of bovine lymphomas. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 34, n. 3, p. 222-225, 1997. <http://dx.doi.org/10.1177/030098589703400307>.

VEZZALI, E. *et al.* Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 8, n. 1, p. 38-49, mar. 2010.

WALTON, R. M.; HENDRICK, M. J. Feline hodgkin's-like lymphoma: 20 cases (1992–1999). **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 38, n. 5, p. 504-511, set. 2001. <http://dx.doi.org/10.1354/vp.38-5-504>.

WELLER, R. E. *et al.* Histologic classification as a prognostic criterion for canine lymphosarcoma. **American Journal of Veterinary Research**, [S.l.], v. 41, p. 1310-1314, 1980.

YIN, S. *et al.* Relation between phenotype of tumor cells and clinicopathology in bovine leukosis. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S.l.], v. 65, n. 5, p. 599-606, 2003. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.65.599>. AIDA, Y. *et al.* Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p.1-11, 2013.